

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**

FACULTAD DE MEDICINA

Departamento de Cirugía



**TESIS DOCTORAL**

**Estudio de la pérdida de heterocigosidad en el brazo corto del  
cromosoma 3 en los carcinomas de células renales (CCR)**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

**Gregorio Javier Chicharro Almarza**

Director

**Jesús Moreno Sierra**

**Madrid, 2017**

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**  
**FACULTAD DE MEDICINA**  
**Departamento de Cirugía**



**ESTUDIO DE LA PÉRDIDA DE HETEROCIGOSIDAD EN  
EL BRAZO CORTO DEL CROMOSOMA 3 EN LOS  
CARCINOMAS DE CÉLULAS RENALES (CCR)**

**TESIS DOCTORAL**

**GREGORIO JAVIER CHICHARRO ALMARZA**

**Madrid 2015**

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**  
**FACULTAD DE MEDICINA**  
**Departamento de Cirugía**



**ESTUDIO DE LA PÉRDIDA DE HETEROCIGOSIDAD EN  
EL BRAZO CORTO DEL CROMOSOMA 3 EN LOS  
CARCINOMAS DE CÉLULAS RENALES (CCR)**

**TESIS DOCTORAL**

**GREGORIO JAVIER CHICHARRO ALMARZA**

**Director: Dr. JESÚS MORENO SIERRA**

**Madrid 2015**



### Informe del Director de la Tesis Doctoral

DATOS DE LA TESIS DOCTORAL	
Nombre del Doctorando	Greogrio Javier Chicharro Almarza
Título de la Tesis	Estudio de la pérdida de heterocigosidad en el brazo corto del cromosoma 3 en los carcinomas de células renales.
Facultad o Centro	Facultad de Medicina. Servicio de Urología. Hospital Clínico San Carlos. Madrid

DATOS DEL DIRECTOR DE LA TESIS DOCTORAL	
Nombre Completo	Jesús Moreno Sierra
Centro al que pertenece y dirección	Facultad de Medicina. Departamento de Cirugía. Universidad Complutense. Servicio de Urología. Hospital Clínico San Carlos. Madrid
D.N.I./Pasaporte	01102822H
e-mail	dr_jmoreno@hotmail.com

	VALORACIÓN DE LA TESIS			
	Muy Buena	Buena	Suficiente	Deficiente
Originalidad	X			
Definición Objetivos	X			
Metodología	X			
Relevancia Resultados	X			
Discusión / Conclusiones	X			

**INFORME** (en caso necesario se podrán añadir más hojas):

El estudio presentado por Don. Gregorio Javier Chicharro Almarza ha sido diseñado y dirigido por mi personalmente desde su inicio, realizando un análisis crítico de la bibliografía y confeccionando un proyecto de investigación que fue presentado a la Fundación para la Investigación en Urología. Esta entidad financió parcialmente el estudio al considerarlo un proyecto viable y realizable.

Quiero destacar que se trata de un estudio original de investigación que se ha podido llevar a cabo entre varios Servicios del Hospital Clínico San Carlos (Urología, Unidad de Genómica y Biología Molecular del Servicio de Análisis Clínicos y Servicio de Anatomía Patológica. Los objetivos son claros y concisos. El diseño del estudio, metodología impecable y análisis estadístico impecables. Los procedimientos estadísticos descritos en material y métodos son los que aparecen reflejados en los resultados y los gráficos son de fácil interpretación.

Los resultados son claros y concisos y aplicables a la práctica clínica. Este estudio tiene como fortaleza el seguimiento de más de 10 años, que ha sido fruto de varias publicaciones del grupo investigador. La mayoría de las publicaciones analizan periodos de revisión mucho menores.

Las conclusiones están basadas en los resultados obtenidos son claros y concisos y responden a los objetivos planteados.



Por tanto, considero que este trabajo reúne todos los requisitos para ser presentado ante el tribunal calificador y poder optar al grado de doctor.

Madrid, a 28 de Septiembre de 2015

Fdo.: Prof. Dr. Jesús Moreno Sierra

Este impreso deberá entregarse al Departamento/Órgano responsable del Posgrado/ Comisión responsable del Programa de Doctorado, para su estudio y aprobación en la admisión a trámite de la tesis doctoral. Asimismo, deberá incluirse entre la documentación enviada a la Comisión de Doctorado para la designación del Tribunal y aprobación de la defensa de la Tesis Doctoral.

Ítem	Valoración	Observaciones
1. Título y resumen	X	
2. Introducción	X	
3. Objetivos	X	
4. Metodología	X	
5. Resultados	X	
6. Conclusiones	X	

*A la memoria de mi padre, que estará siempre presente.*

*A toda mi familia.*

*“Es preciso sacudir enérgicamente el bosque de las neuronas cerebrales adormecidas; es menester hacerlas vibrar con la emoción de lo nuevo e infundirles nobles y elevadas inquietudes”.*

*Santiago Ramón y Cajal*

Muchas han sido las personas que han hecho posible que algún día yo pudiera defender esta tesis, pues esto no ha sido un esfuerzo individual, sino colectivo; fruto del ánimo, ideas y aliento de quienes me encontré en mi camino. Y es ahora que ha llegado a su término, que me doy cuenta de lo que tengo que agradecer a tanta gente.

Al Dr. Jesús Moreno Sierra, director de esta tesis, por su amistad, estímulo constante y sus sabios consejos. Por el interés que siempre demostró en este trabajo y la cordial firmeza con la que lo ha dirigido. Ha sabido comprender mi ritmo y mis dudas con paciencia; recibiendo siempre a cambio disposición y sobre todo, una sincera amistad.

Al Dr. Jesús Golbano por todos estos años de trabajo a su lado. Por ser clave en mi vida profesional, inculcándome el compromiso con el trabajo bien hecho. Siempre ha sido y será “mi maestro”.

Al Profesor Luis Resel, por tanto tiempo que me dedicó en mis comienzos de residente. Gracias por aquellas conversaciones científicas de las que tanto provecho he sacado; por su apoyo constante teniendo siempre para mí, su puerta abierta.

Al Servicio de Urología del Hospital Clínico San Carlos por acogerme con tanto cariño y ayudarme en mis primeros pasos. Nunca los olvidaré.

Al Dr. Álvaro Serrano por su apoyo constante y su amistad incondicional; una persona muy grande como profesional pero de una altura aún mayor como persona. Gracias por confiar siempre en mí.

A mis compañeros y amigos del Servicio de Urología del Hospital de Guadalajara con los cuales he compartido incontables horas de trabajo, enfrentándonos a momentos duros y a otros inolvidables.

El mayor agradecimiento es a mis padres, todo lo que soy se lo debo a ellos. Ellos han estado y siguen estando SIEMPRE en los malos momentos. GRACIAS.

A mis hermanas Val y Carmen por estar siempre conmigo, apoyarme y ser una parte importante de mi vida.

Por último, a mi familia que sin su ayuda habría sido imposible realizar este proyecto, a mi mujer Pilar que ha compartido todo el tiempo a mi lado, por su cariño y su amor, su comprensión, su sacrificio, su enorme optimismo y su generosidad sin límites. A mis hijos Javier y Gonzalo, que con su alegría hacen que mi vida sea plenamente feliz.

Para todos, mi mayor reconocimiento. Esto también es vuestro.



# ABREVIATURAS

---

## ABREVIATURAS

- **WHO:** World Health Organization.
- **CCR:** Carcinoma de Células Renales.
- **VHL:** von Hippel-Lindau.
- **3p:** Brazo corto del cromosoma 3.
- **CCRcc:** Carcinoma de Células Renales de células claras.
- **SEER:** Surveillance Epidemiology and End Results Program.
- **IARC:** International Agency for Research on Cancer.
- **ASRs:** Tasa estandarizada o ajustada por la edad por 100.000 personas-año.
- **IMC:** Índice de masa corporal.
- **IC:** Intervalo de Confianza.
- **OMS:** Organización Mundial de la Salud.
- **UICC:** Union for International Cancer Control.
- **AJCC:** American Joint Committee on Cancer.
- **ISUP:** International Society of Urological Pathology.
- **ALK:** Anaplastic Lymphoma Kinase.
- **MIT:** Microphthalmia Associated Transcription.
- **MITF:** Microphthalmia Associated Transcription Factor.
- **NQA:** Nefropatía Quística Adquirida.
- **TNM:** Clasificación tumoral (TNM) (Tumour, Node, Metastasis).
- **FH:** Fumarato Hidratasa.
- **FHIT:** Fragile Histidine Triad.
- **PTEN:** Phosphatase and Tensin homolog.
- **BCR-ABL:** Breakpoint Cluster Region – Gen ABL.
- **CCRcr:** Carcinoma de Células Renales Cromóforo.
- **CCR TQ:** Carcinoma de Células Renales Tubuloquístico.
- **CCRF:** Carcinoma de Células Renales Familiar o hereditario.
- **LOH:** Pérdida de heterocigosidad.
- **ECOG:** Eastern Cooperative Oncology Group.
- **UCLA:** University of California Los Angeles.
- **MSKCC:** Memorial Sloan Ketterin Cancer Center.
- **RFLP:** Restriction Fragment Length Polymorphism.
- **TAC:** Tomografía Axial Computerizada.
- **PAAF:** Punción-aspiración con aguja fina.
- **ADN:** Acido Desoxirribonucleico.
- **HDA:** Hemorragia Digestiva Alta.
- **TBE:** Tris – Bórico – EDTA.
- **PCR:** Polimerase Chain Reaction.

- 
- **SDS:** Dodecil Sulfato Sódico.
  - **UV:** Ultravioleta.
  - **DNTPs:** Nucleótidos.
  - **ANOVA:** Análisis de la Varianza.
  - **DE:** Desviación Estándar.
  - **RIC:** Rango Intercuartílico.
  - **SG:** Supervivencia Global.
  - **SCE:** Supervivencia Cáncer Específica.
  - **SLR:** Supervivencia Libre de Recidiva Local.
  - **SLM:** Supervivencia Libre de Metástasis.
  - **SLE:** Supervivencia Libre de Enfermedad.
  - **RR:** Riesgos Relativos.
  - **HR:** Hazard Ratio.
  - **GPG:** (G-bands por Pancreatina con tinción de Giemsa).
  - **MIN:** Inestabilidad de microsatélite.
  - **CGH:** Comparative Genomic Hybridization.
  - **CAIX:** Anhidrasa Carbónica IX

# ÍNDICE

---

RESUMEN.....	1
SUMMARY .....	6
INTRODUCCIÓN.....	11
EPIDEMIOLOGÍA .....	13
FACTORES ETIOLÓGICOS .....	18
HISTOPATOLOGÍA DE LAS NEOPLASIAS RENALES .....	21
1. Características macroscópicas de los CCR .....	21
2. Localización y Multifocalidad de los CCR .....	22
3. Clasificación de los tumores de células renales.....	23
3.1 Neoplasias benignas.....	28
3.1.1 Adenoma papilar.....	28
3.1.2 Oncocitoma renal.....	29
3.1.3 Adenoma metanéfrico (adenoma embrionario, nefroma nefrogénico) y adenofibroma metanéfrico (adenofibroma nefrogénico) .....	33
3.2 Neoplasias malignas.....	35
3.2.1 Carcinoma células renales de células claras (CCRcc).....	35
3.2.2 Carcinoma células renales quístico multilocular (CCR quístico-multilocular) .....	38
3.2.3 Carcinoma células renales papilar (CCR papilar) .....	39
3.2.4 Carcinoma de células renales cromóforo (CCRcr) .....	42
3.2.5 Carcinoma de células renales de los ductos colectores.....	45
3.2.6 Carcinoma renal medular (CCR medular) .....	47
3.2.7 Carcinoma de células renales Tubuloquístico (CCR TQ).....	48
3.2.8 Carcinoma de células renales asociado a translocaciones del MiT familiar .....	49
3.2.9 Carcinoma de células renales asociado a nefropatía quística adquirida .....	50
3.2.10Carcinoma de células renales inclasificables.....	51
4. Grado de diferenciación .....	55
5. Sistema de estadiaje (TNM) .....	57
FACTORES PRONÓSTICOS .....	60
SÍNDROMES DE CÁNCER DE CÉLULAS RENALES FAMILIAR (CCRF).....	62
BIOLOGÍA MOLECULAR DE LOS CARCINOMAS DE CÉLULAS RENALES .....	64
GENÉTICA DE LOS CARCINOMAS DE CÉLULAS RENALES.....	65
1. Carcinoma de células renales y pérdida de heterocigosidad en el brazo corto del cromosoma 3 (3p) .....	70
JUSTIFICACIÓN E HIPÓTESIS.....	73
PACIENTES .....	75
1. PERIODO DE ESTUDIO .....	75
2. POBLACIÓN DE ESTUDIO.....	75
3. VARIABLES DEL ESTUDIO.....	76

MÉTODOS .....	78
1. METODOLOGÍA CLÍNICA.....	78
2. METODOLOGÍA ANALÍTICA .....	80
2.1. ESTUDIO HISTOPATOLÓGICO .....	80
2.2. PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS .....	81
2.2.1. Extracción y Cuantificación del ADN .....	81
A. Extracción del ADN .....	81
B. Cuantificación del ADN.....	83
2.2.2. Determinación de las alteraciones genéticas .....	84
A. Estudio de la pérdida de heterocigosidad de los locus 3p14.1-14.3 (D3S1228), 3p21.2-21.3 (D3S1029) y 3p25 (D3S1038) .....	84
A.1 Amplificación mediante la reacción en cadena de polimerasa (PCR).....	84
A.2 Electroforesis.....	87
A.3 Revelado .....	89
A.4 Interpretación de los resultados .....	91
3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....	92
4. CONSIDERACIONES ÉTICAS. ....	96
RESULTADOS .....	97
DESCRIPCIÓN DE LA POBLACIÓN .....	97
Características de los Tumores.....	100
Tipo histológico.....	100
Clasificación TNM.....	101
Grado de diferenciación nuclear .....	104
Multifocalidad.....	106
Características macroscópicas del tumor .....	107
Relación del tipo histológico con la clasificación TNM.....	109
Relación del tipo histológico con el estadio tumoral .....	109
Relación del tipo histológico con el grado nuclear .....	110
ESTUDIO DE LA PÉRDIDA DE HETEROCIGOSIDAD EN EL BRAZO CORTO DEL CROMOSOMA 3 .....	111
1. Estudio de las alteraciones genéticas en el cromosoma 3 .....	111
1.1 Estudio de la pérdida de heterocigosidad y/o inestabilidad microsatelite. ....	115
1.1.1 Relación con las variables clínico-patológicas .....	116
1.1.2 Relación con los factores pronóstico-clásicos.....	118
1.1.3 Relación con las variables de evolución post-operatoria. ....	120
1.2 Estudio de la pérdida de heterocigosidad en 3p14.1-14.3 .....	121
1.3 Estudio de la pérdida de heterocigosidad en 3p21.2-21.3 .....	123
1.3.1 Relación con las variables clínico-patológicas. ....	123



1.3.2 Relación con los factores pronóstico-clásicos .....	124
1.3.3 Relación con las variables de evolución postoperatoria.....	127
1.4 Estudio de la pérdida de heterocigosidad y/o inestabilidad cromosómica en 3p25. .	128
1.4.1 Relación con las variables clínico-patológicas. ....	128
1.4.2 Relación con los factores pronósticos-clásicos. ....	131
1.4.3 Relación con variables post-operatorias.....	133
2. Correlación con el tipo histopatológico .....	134
2.1 Estudio de los CCR de células claras y su pérdida de heterocigosidad en las regiones 3p14, 3p21 y 3p25.....	135
2.1.1 Estudio de los CCR de células claras y la pérdida de heterocigosidad en la región 3p14. ....	136
2.1.2 Estudio de los CCR de células claras y la pérdida de heterocigosidad en la región 3p21 .....	136
2.1.2.1 Relación con las variables clínico-patológicas.....	136
2.1.2.2 Relación con los factores pronóstico-clásicos .....	138
2.1.2.3 Relación con variables post-operatorias. ....	139
2.1.3 Estudio de los CCR de células claras y su pérdida de heterocigosidad en la región 3p25 .....	140
2.1.3.1 Relación con las variables clínico-patológicas.....	140
2.1.3.2 Relación con los factores pronósticos-clásicos. ....	142
2.1.3.3 Relación con variables de evolución post-operatorias.....	144
2.2 Estudio de los CCR de túbulo colectores (Bellini) y su pérdida de heterocigosidad en las regiones 3p14, 3p21 y 3p25. ....	146
3. Mapa de deleciones en los CCR con LOH en 3p.....	148
EVOLUCIÓN POSTOPERATORIA DE LOS PACIENTES CON TUMORES RENALES.	
ANÁLISIS DE LA INFLUENCIA PRONÓSTICA. ....	150
1. Analisis univariable de la probabilidad acumulada de supervivencia global de los pacientes con tumores renales en relación con las variables clínico-patológicas, los factores pronósticos clásicos y la LOH en 3p. ....	151
2. Analisis univariable de la probabilidad acumulada de supervivencia cáncer específica de los pacientes con tumores renales en relación con las variables clínico-patológicas, los factores pronósticos clásicos y la LOH en 3p. ....	156
3. Analisis univariable de la probabilidad acumulada de recidiva local de los pacientes con tumores renales en relación con las variables clínico patológicas, los factores pronósticos clásicos y la LOH en 3p.....	161
4. Analisis univariable de la probabilidad acumulada de presentar metástasis de los pacientes con tumores renales en relación con las variables clínico patológicas, los factores pronósticos clásicos y la LOH en 3p. ....	165
5. Analisis univariable de la probabilidad acumulada de la supervivencia libre de enfermedad de los pacientes con tumores renales en relación con las variables clínico patológicas, los factores pronósticos clásicos y la LOH en 3p. ....	171

---

DISCUSIÓN.....	176
CONCLUSIONES.....	199
BIBLIOGRAFÍA.....	200

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla I.</b> Distribución geográfica CCR. <sup>12,13</sup> .....	14
<b>Tabla II.</b> Tabla de tasas de incidencia y mortalidad.....	15
<b>Tabla III.</b> Factores de riesgo en el cáncer de células renales (CCR). ....	18
<b>Tabla IV.</b> Clasificación de los tumores epiteliales del parénquima renal según UICC y AJCC (1997).....	25
<b>Tabla V.</b> Clasificación Histológica de los tumores de riñón de la WHO <sup>3</sup> de 2004.....	26
<b>Tabla VI.</b> Recomendaciones de la ISUP en 2013 <sup>45</sup> .....	27
<b>Tabla VII.</b> Modificación de la ISUP Vancouver (2013) a la Clasificación Histológica de los Tumores de células renales de la WHO (2004) <sup>45</sup> .....	27
<b>Tabla VIII.</b> Neoplasias benignas y sus alteraciones genéticas.....	35
<b>Tabla IX.</b> Hallazgos clínico-patológicos y genéticos de los principales CCR en adultos. ....	53
<b>Tabla X.</b> Alteraciones genéticas en tumores renales epiteliales. ....	54
<b>Tabla XI.</b> Grados de diferenciación nuclear. (Fuhrman et al. 1982) <sup>146</sup> .....	55
<b>Tabla XII.</b> Tabla por estadios de TNM 2002. ....	58
<b>Tabla XIII.</b> Revisiones de la Clasificación de la UICC TNM de los CCR.....	59
<b>Tabla XIV.</b> Nomogramas y algoritmos pronósticos en los CCR. ....	61
<b>Tabla XV.</b> CCR Familiar o Hereditario <sup>180-212</sup> .....	63
<b>Tabla XVI.</b> Secuencias de los primers utilizados en la amplificación de los locus 3p 14.1-14.3, 3p 21.2-21.3 y 3p 25 mediante PCR.....	87
<b>Tabla XVII.</b> Descripción de las variables clínico-patológicas. ....	99
<b>Tabla XVIII.</b> Descripción de las características histopatológicas del tumor y estudio de la pérdida de heterocigosidad en el brazo corto del cromosoma 3 en el único paciente con afectación ganglionar de nuestra serie. ....	103
<b>Tabla XIX.</b> Descripción de las variables macroscópicas tumorales. ....	107
<b>Tabla XX.</b> Datos histopatológicos y alteraciones genéticas de los 41 pacientes.....	108
<b>Tabla XXI.</b> Relación entre el tipo histológico y la clasificación TNM de los 39 CCR.....	109
<b>Tabla XXII.</b> Relación entre el tipo histológico y el estadio tumoral de los 39 CCR .....	110
<b>Tabla XXIII.</b> Relación entre el tipo histológico y el grado nuclear de los 39 CCR.....	110
<b>Tabla XXIV.</b> Relación LOH en 3p con las variables clínico-patológicas.....	117
<b>Tabla XXV.</b> Relación LOH en 3p con los factores pronósticos-clásicos. ....	119
<b>Tabla XXVI.</b> Relación LOH en 3p con las variables de evolución postoperatoria.....	120
<b>Tabla XXVII.</b> Descripción de las características tumorales en los pacientes con LOH en 3p14.1-14.3 de nuestra serie de 41 pacientes.....	121

<b>Tabla XXVIII.</b> Relación LOH en 3p21.2-21.3 con las variables clínico-patológicas. ....	124
<b>Tabla XXIX.</b> Relación LOH en 3p21.2-21.3 con los factores pronósticos-clásicos. ....	126
<b>Tabla XXX.</b> Relación LOH en 3p21.2-21.3 con las variables de evolución postoperatoria..	127
<b>Tabla XXXI.</b> Descripción de las características tumorales en los pacientes con inestabilidad microsatélite en 3p25LOH en nuestra serie de 41 pacientes .....	129
<b>Tabla XXXII.</b> Relación LOH en 3p25 con las variables clínico-patológicas. ....	130
<b>Tabla XXXIII.</b> Relación LOH en 3p25 con los factores pronósticos-clásicos. ....	132
<b>Tabla XXXIV.</b> Relación LOH en 3p25 con las variables de evolución postoperatoria. ....	133
<b>Tabla XXXV.</b> Relación de contingencia entre las variables “Tipo histológico” y “LOH” ( $p=0,024$ ) .....	135
<b>Tabla XXXVI.</b> Relación LOH en 3p21.2-21.3 con las variables clínico-patológicas en los 29 CCRcc de la serie. ....	137
<b>Tabla XXXVII.</b> Relación LOH en 3p21.2-21.3 con los factores pronósticos clásicos en los 29 CCRcc de la serie. ....	139
<b>Tabla XXXVIII.</b> Relación LOH en 3p21.2-21.3 con las variables post-operatorias en los 29 CCRcc de la serie. ....	140
<b>Tabla XXXIX.</b> Relación LOH en 3p25 con las variables clínico-patológicas en los 29 CCRcc de la serie. ....	142
<b>Tabla XL.</b> Relación LOH en 3p25 con los factores pronósticos clásicos en los 29 CCRcc de la serie. ....	144
<b>Tabla XLI.</b> Relación LOH en 3p25 con las variables post-operatorias en 29 los CCRcc de la serie. ....	145
<b>Tabla XLII.</b> Descripción de las características tumorales y LOH de los pacientes con CCR de los ductos colectores (Bellini).....	148
<b>Tabla XLIII.</b> Resultados del análisis de microsatélites para la pérdida de heterocigosidad en los 3 locus del 3p estudiados en 41 pacientes diagnosticados de tumores renales. ....	149
<b>Tabla XLIV.</b> Descripción de las características tumorales y LOH de los pacientes fallecidos en la serie de 41 pacientes. ....	152
<b>Tabla XLV:</b> Análisis univariable de la supervivencia global en relación con las variables clínico-patológicas.....	153
<b>Tabla XLVI.</b> Análisis univariable de la supervivencia global en relación con los factores pronósticos clásicos. ....	154
<b>Tabla XLVII.</b> Análisis univariable de la supervivencia global en relación con la pérdida de heterocigosidad en el brazo corto del cromosoma 3. ....	155

---

<b>Tabla XLVIII.</b> <i>Análisis univariable de la supervivencia cáncer específica en relación con las variables clínico-patológicas.</i> .....	157
<b>Tabla XLIX.</b> <i>Análisis univariable de la supervivencia cáncer específica en relación con los factores pronósticos clásicos.</i> .....	158
<b>Tabla L.</b> <i>Análisis univariable de la supervivencia cáncer específica en relación con la pérdida de heterocigosidad en el brazo corto del cromosoma 3.</i> .....	159
<b>Tabla LI.</b> <i>Análisis univariable de la recidiva local en relación con las variables clínico-patológicas.</i> .....	161
<b>Tabla LII.</b> <i>Análisis univariable de la recidiva local en relación con los factores pronósticos clásicos.</i> .....	162
<b>Tabla LIII.</b> <i>Análisis univariable de recidiva local en relación con la pérdida de heterocigosidad en el brazo corto del cromosoma 3.</i> .....	163
<b>Tabla LIV.</b> <i>Descripción de las características tumorales y LOH de los pacientes con Metástasis</i> .....	166
<b>Tabla LV.</b> <i>Análisis univariable de la existencia de metástasis en relación con las variables clínico-patológicas.</i> .....	167
<b>Tabla LVI.</b> <i>Análisis univariable de la existencia de metástasis en relación con los factores pronósticos clásicos.</i> .....	168
<b>Tabla LVII.</b> <i>Análisis univariable de existencia de metástasis en relación con la pérdida de heterocigosidad en el brazo corto del cromosoma 3.</i> .....	169
<b>Tabla LVIII.</b> <i>Análisis univariable de la supervivencia libre de enfermedad en relación con las variables clínico-patológicas.</i> .....	172
<b>Tabla LIX.</b> <i>Análisis univariable de la supervivencia libre de enfermedad en relación con los factores pronósticos clásicos.</i> .....	173
<b>Tabla LX.</b> <i>Análisis univariable de supervivencia libre de enfermedad en relación con la pérdida de heterocigosidad en el brazo corto del cromosoma 3.</i> .....	174

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Imagen macroscópica de un CCR de células claras. ....	22
<b>Figura 2:</b> Histología de un oncocitoma. ....	32
<b>Figura 3.</b> Histología de uno de los CCR de células claras. ....	37
<b>Figura 4.</b> CCR papilar Tipo 1. ....	40
<b>Figura 5.</b> CCR papilar Tipo 2. ....	40
<b>Figura 6.</b> Histología de CCR cromóforo. ....	44
<b>Figura 7.</b> Histología CCR de los túbulos colectores de Bellini. ....	46
<b>Figura 8:</b> Genes relacionados con CCRcc. ....	68
<b>Figura 9:</b> Mapa del cromosoma 3 ....	72
<b>Figura 10.</b> Geles en los que se estudió LOH en 3p con los marcadores genéticos. ....	91
<b>Figura 11:</b> Distribución por sexos. Serie de 41 pacientes sometidos a nefrectomía. ....	97
<b>Figura 12:</b> Distribución del tipo histológico según la clasificación WHO (2004). ....	100
<b>Figura 13:</b> Distribución de los CCR según su categoría pT según clasificación TNM 2002. ....	102
<b>Figura 14:</b> Distribución de los CCR según el estadio tumoral (TNM 2002). ....	104
<b>Figura 15:</b> Distribución relativa (%) de los CCR según su grado nuclear. ....	105
<b>Figura 16:</b> Distribución de los CCR según el grado de diferenciación nuclear en bajo grado y alto grado. ....	106
<b>Figura 17:</b> Pérdida de heterocigosidad LOH en el brazo corto del cromosoma 3 en nuestra serie de 41 pacientes sometidos a nefrectomía. ....	112
<b>Figura 18:</b> Pérdida de heterocigosidad LOH en 3p14.1-14.3 (D3S1228) en nuestra serie de 41 pacientes sometidos a nefrectomía. ....	113
<b>Figura 19:</b> Pérdida de heterocigosidad LOH en 3p21.2-21.3 (D3S1029) en nuestra serie de 41 pacientes sometidos a nefrectomía. ....	114
<b>Figura 20:</b> Pérdida de heterocigosidad LOH en 3p25 (D3S1038) en nuestra serie de 41 pacientes sometidos a nefrectomía. ....	115
<b>Figura 21.</b> Supervivencia acumulada global de la serie de 41 pacientes sometidos a nefrectomía. ....	151
<b>Figura 22.</b> Supervivencia acumulada global comparada de pacientes con LOH en 3p y sin LOH en 3p de la serie de 41 pacientes sometidos a nefrectomía. ....	155
<b>Figura 23.</b> Supervivencia acumulada cáncer específica por el CCR de la serie de 41 pacientes sometidos a nefrectomía. ....	156
<b>Figura 24.</b> Supervivencia cáncer específica comparada de pacientes con LOH en 3p y sin	



---

<i>LOH en 3p de la serie de 41 pacientes sometidos a nefrectomía. ....</i>	<i>160</i>
<b>Figura 25.</b> <i>Supervivencia libre de recidiva local comparando los pacientes con LOH en 3p y sin LOH en 3p de la serie de 41 pacientes sometidos a nefrectomía. ....</i>	<i>164</i>
<b>Figura 26.</b> <i>Supervivencia libre de metástasis en nuestra serie de 41 pacientes sometidos a nefrectomía. ....</i>	<i>165</i>
<b>Figura 27.</b> <i>Supervivencia libre de metástasis comparando los pacientes con LOH en 3p y los que no tenían LOH en 3p de la serie de 41 pacientes sometidos a nefrectomía. ....</i>	<i>170</i>
<b>Figura 28.</b> <i>Supervivencia libre de enfermedad de la serie de 41 pacientes sometidos a nefrectomía. ....</i>	<i>171</i>
<b>Figura 29.</b> <i>Supervivencia libre de enfermedad comparando los pacientes con LOH en 3p y los que no tenían LOH en 3p de la serie de 41 pacientes sometidos a nefrectomía. ....</i>	<i>175</i>

# RESUMEN

## **RESUMEN**

### ***INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS***

En los Carcinomas de células renales (CCR) se han descrito e implicado pérdidas de material genético en diversas regiones del brazo corto del cromosoma 3 (3p). Hemos realizado un análisis de microsatélites en la región 3p14-3p25 para estudiar dichas pérdidas de heterocigosidad y su relación con los antecedentes y hallazgos clínicos, características histopatológicas del tumor así como las respectivas tasas de supervivencia global, supervivencia cáncer específica, supervivencia libre de recidiva local, supervivencia libre de metástasis y supervivencia libre de enfermedad.

### ***PACIENTES Y MÉTODOS***

Realizamos un estudio de cohortes retrospectivo. Se obtuvieron muestras de 41 pacientes sometidos a nefrectomía por tumor renal en el Servicio de Urología del Hospital Clínico San Carlos de Madrid durante los años 1993-1998. Nada más extraer la pieza quirúrgica, se extrajeron dos muestras de tejido renal de cada paciente, una de tejido tumoral y otra de tejido renal sano. Las muestras se congelaron inmediatamente en nitrógeno líquido y después se conservaron a -80°C hasta su posterior procesamiento. Determinamos el tipo histológico según la clasificación propuesta por WHO en 2004 (3). El grado de diferenciación se realizó siguiendo los criterios de Fuhrman (146). El tumor fue estadiado según la Clasificación TNM y estadio de

la UICC y AJCC del 2002 (156). El estudio y seguimiento clínico de los pacientes consistió en visita médica, analíticas, ecografía, radiografías y/o TAC cada tres meses el primer año, cada 6 meses en los siguientes dos años y posteriormente una visita anual.

La extracción del ADN se realizó mediante un método convencional de fenol-cloroformo. Una vez extraído y cuantificado el ADN realizamos la amplificación mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) de los locus D3S1228, D3S1029 y D3S1038 que corresponden a las localizaciones cromosómicas 3p14.1-14.3, 3p21.2-21.3, 3p25 respectivamente. La electroforesis se llevó a cabo en geles de poliacrilamida al 8%. El revelado se realizó con una disolución de nitrato de plata al 0,1%.

Análisis estadístico. Se obtuvieron los porcentajes totales de la pérdida de heterocigosidad (LOH) y se realizó la comparación entre la frecuencia de las alteraciones y las distintas variables clínicas cualitativas con el test  $\chi^2$  o mediante test de Fischer cuando no se pudo aplicar el primero. Las variables cuantitativas se compararon con la test de Student. Se realizó un análisis estratificado para los efectos obtenidos en el análisis univariado. Las funciones de supervivencia han sido estimadas por el método de Kaplan-Meier para las variables dependientes.

---

## **RESULTADOS**

La edad media de la serie fue de 60,5 años. De ellos, 29 (70,7%) eran varones y 12 (29,3%) mujeres. Los 41 tumores analizados corresponden 29 (70,7%) CCR de células claras (CCRcc), 5 (12,2%) CCR papilares (CCRpapilares), 1 (2,4%) CCR cromóforo (CCRcr), 4 (9,8%) CCR ductos colectores de Bellini (CCR Bellini), 2 (4,9%) oncocitomas. El grado nuclear correspondió Grado 1: 7 tumores (17,9%), Grado 2: 22 tumores (56,4%), Grado 3: 9 tumores (23,1%) y Grado 4: 1 tumor (2,6%). Según el TNM había 13 (33,3%) pT1a, 9 (23,1%) pT1b, 2 (5,1%) pT2, 7 (17,9%) pT3a, 8 (20,5%) pT3b. Solo un paciente tuvo afectación ganglionar (2,56%). Por estadios hubo 7 (17,9%) Estadio I, 22 (56,4%) Estadio II, Estadio III 9 (23,1%) y 1 (2,6%) Estadio IV.

En el estudio de la LOH en el brazo corto del cromosoma 3, 18 pacientes (43,9%) tenían LOH en al menos una de las tres regiones estudiadas. Encontramos LOH 3p14.1-14.3 en 3 tumores (7,5%), LOH 3p21.2-21.3 16 tumores (39%) y LOH 3p25 6 tumores (14,6%).

De los 41 pacientes estudiados 3 pacientes (7,5%) presentaban pérdida en las tres regiones, 2 (4,8%) pacientes tenían 2 pérdidas (regiones 3p21 y 3p25), 12 (29,3%) pacientes tenían 1 pérdida, de los cuales 10 (24,4%) pacientes en la región 3p21 y 2 (4,8%) pacientes pérdida en 3p25 y 1 (2,4%) paciente presentaba inestabilidad en 3p25.

En nuestra serie encontramos LOH en 3p solo en los CCRcc 16/29 (55,17%) y en los CCR de los ductos de Bellini 2/4 (50%). Al realizar una comparación de proporciones sí que se encontraba una asociación estadísticamente significativa entre la LOH en 3p y el tipo histológico con una  $p=0,024$ .

El microsatélite que presentó mayor pérdida de la heterocigosidad fue el D3S1029 localizado en 3p21.2-21.3 encontrando LOH en 14/29 (48,3%) de los CCRcc y en 2/4 (50%) de los CCR de los ductos colectores de Bellini.

No se encontró asociación entre la LOH en 3p (3p14, 3p21, 3p25 o en cualquier locus) con las variables clínico-patológicas, ni con el grado nuclear, ni con el estadio tumoral.

La mediana de seguimiento de la cohorte fue de 145 meses (RIC 80-164). Presentaron recidiva local 4 pacientes (9,8%), desarrollaron metástasis 8 (19,5%) y hubo 10 (24,4%) exitus, de los cuales 5 (12,2%) pacientes fallecieron por su carcinoma de células renales.

Encontramos que los pacientes con pérdida de heterocigosidad en 3p25 presentaban mejor supervivencia cáncer específica y supervivencia libre de recidiva local que los que no presentaban LOH en 3p25.



**CONCLUSIONES:**

1. La pérdida del material genético a nivel del brazo corto del Cr 3 es una alteración frecuente en los CCR de células claras. Nosotros detectamos LOH en 3p en el (55,2%) de los CCRcc, lo que sugiere la existencia de gen(es) tumoral (es) supresor (es) implicados en la génesis de este tipo de neoplasias.
2. Se ha mostrado en nuestra serie, una pérdida de heterocigosidad (LOH) en el 50% de los tumores de los ductos de Bellini.
3. El marcador D3S1029 localizado en la región 3p21.2-21.3 presentó en nuestra serie el mayor número de pérdidas genéticas de todos los estudiados, podría sugerir la existencia probable de un/os gen/es supresores en vecindad de dicho locus.
4. La pérdida de heterocigosidad del brazo corto del cromosoma 3 no evidenció en nuestra cohorte relación con las variables clínico-patológicas, ni con el grado nuclear, ni con el estadio tumoral.
5. Los pacientes con LOH en 3p25 mostraron mejor supervivencia cáncer específica y mejor supervivencia libre de recidiva local que los que no presentaban LOH en 3p25.

## **SUMMARY**

### **BACKGROUND & AIMS:**

In renal cell carcinomas (RCC) have been described and involved loss of genetic material in several regions of the short arm of chromosome 3p. We have made an analysis of microsatellites in the region 3p14-3p25 to study such loss of heterozygosity and its relationship to the history and clinical findings, histopathological characteristics of the tumor and the respective rates of overall survival, cancer-specific survival, local recurrence-free survival, metastasis-free survival and disease-free survival.

### **PATIENTS AND METHODS:**

We conducted a retrospective cohort study. Samples were taken from 41 patients undergoing nephrectomy for renal tumor in the urology department of San Carlos Clinical Hospital between 1993 to 1998 were obtained. As soon as the surgical specimen was obtained, two samples of kidney tissue of each patient was extracting, one from tumoral tissue and an other from healthy tissue. These samples were immediately frozen in liquid nitrogen and then stored at -80° C until further processing. The histological type was established according to the classification proposed by WHO in 2004 (3). The degree of differentiation was made following Fuhrman criterion (146). The tumor was established according to the TNM classification and stage of the UICC and AJCC 2002 (156). The study and clinical surveillance of patients consisted in

medical visits, laboratory, ultrasound, radiography and tomography each three months during the first year, each 6 months over the next two years and thereafter an annual visit.

DNA extraction was performed using a conventional phenol-chloroform method. Once the DNA extraction and quantification is done, the amplification is performed by polymerase chain reaction (PCR) of the locus D3S1228, D3S1029 and D3S1038 corresponding to the chromosomal locations 3p14.1-14.3, 3p21.2-21.3, 3p25 respectively. Electrophoresis was carried out in polyacrylamide gels 8%. The development was performed with a solution of silver nitrate 0.1%.

Statistic analysis. The total percentage loss of heterozygosity (LOH) were obtained and compared between the alterations frequency and the different quantitative clinical variables performed by X2 test or by Fhisher's test when X2 test could not be applied. Quantitative variables were compared using the Student test. One stratified analysis of the effects obtained in the univariate analysis was performed. Survival functions were estimated by the Kaplan-Meier method for the dependent variables.

## **OUTCOMES:**

The mean of age of the series was 60.5 years. Of these 29 (70,7%) were male and 12 (29,3%) women. Of the 41 tumors analyzed 29 (70,7%) are clear cell RCC (CCRcc); 5 (12,2%) Papillary CCR; 1 (2,4%) chromophobe CCR;

4 (9,8%) collecting ducts of Bellini CCR; 2 (4,9%) oncocytomas. Nuclear grade (Fuhrman) has corresponded to Grade 1: 7 tumors (17,9%), Grade 2: 22 tumors (56,4%), Grade 3: 9 tumors (23,1%) and Grade 4: 1 tumor (2,6%). According to TNM staging was 13 (33,3%) pT1a; 9 (23,1%) pT1b; 2 (5,1%) pT2; 7 (17,9%) pT3a; 8 (20,5%) pT3b. Only one patient had lymph node involvement (2,56%). For Stage: 7(17,9%) Stage I; 22 (56,4%) Stage II; 9 (23,1%) Stage III; 1 (2,6%) Stage IV.

In the study of LOH in the short arm of chromosome 3, 18 patients (43,9%) had LOH in at least one of the three regions analyzed. Were found LOH 3p14 in 3 tumors (7,5%). LOH 3p21 in 16 tumors (39%) and LOH 3p25 in 6 tumors (14,6%).

Of the 41 patients studied, 3 patients (7,5%) had lost in the three regions, 2 (4,8%) patients had 2 Missed (regions 3p21 and 3p25), 12 (29,3%) patients had 1 lost (10 (24,4%) patients in the region 3p21 and 2 (4,8%) patients had lost in 3p25) and 1 (2,4%) patient had instability in 3 p25.

In our series we found LOH at 3p only in the CCRcc 16/29 (55,17 %). And in Bellini ducts CCR 2/4 (50%). When making a comparison of proportions we found a statistically significant association between LOH at 3p and histological type with  $p = 0,024$ .

The microsatellite with higher loss of heterozygosity was located in 3p21.2-21.3 D3S1029 finding LOH in 14/29 (48,3%) of the CCRcc and 2/4 (50%) of the collecting duct RCC Bellini.

No association was found between LOH at 3p (3p14, 3p21, 3p25 or any locus) with the clinic pathological variables, or with nuclear grade, or the tumor stage.

The median follow-up of the cohort was 145 months (IQR 80-164). They developed local recurrence 4 patients (9,8%) developed metastases eight (19,5%) and were 10 (24,4%) patient died, of which 5 (12,2%) patients died due to renal cell carcinoma.

We found that patients with heterozygosity loss at 3p25 had better cancer-specific survival and local recurrence-free survival than those without LOH at 3p25.

**CONCLUSIONS:**

1. The lost of genetic material at the level of the short arm of Cr 3 is a frequent alteration in clear cell RCC. We detected LOH at 3p in (55,2%) of the CCRcc, suggesting the existence of gene/s tumor/s suppressor/s involved in the genesis of this type of tumor.
2. In our series has been shown a loss of heterozygosity (LOH) in 50% of tumors of Bellini ducts.
3. D3S1029 marker located in the region 3p21.2-21.3 presented in our series the highest number of gene losses of all those studied, might suggest probable existence of one or more genes in proximity of the suppressor locus.
4. In our cohort the loss of heterozygosity on the short arm of chromosome 3 showed no relationship with clinic pathological variables, nuclear grade, or tumoral stage.
5. Patient's whit LOH at 3p25 showed better cancer-specific survival and local recurrence-free survival than those without LOH at 3p25.



# INTRODUCCIÓN

## INTRODUCCIÓN

Hace más de 200 años que se publicó el primer caso de cáncer renal, pero ha sido en los últimos 30 años cuando se han desarrollado los verdaderos avances en el conocimiento del espectro de las neoplasias renales (1). Para hacernos una idea, mencionaremos que en la edición de 1981 de la Clasificación de los Tumores Renales por la World Health Organization (WHO) (2) había 9 categorías de neoplasias renales, y en la tercera edición de 2004 (3) se publicaron 50 categorías.

Clásicamente, los Carcinomas de células renales (CCR) se han considerado una entidad única. Hoy día, se considera más bien como una familia de cánceres que se originan por distintas anomalías genéticas con características propias, pero que proceden en su inmensa mayoría del epitelio tubular renal. Los avances de la genética y la biología molecular han arrojado luz sobre las alteraciones genéticas subyacentes a varios tipos de tumores corticales renales, y sobre las vías moleculares implicadas en su oncogénesis. Por ejemplo, el descubrimiento del gen supresor tumoral de la enfermedad de von Hippel-Lindau (VHL) y de la vía inducida por la hipoxia en el CCR de células claras (CCRcc) ha sido fundamental para aplicación de nuevas estrategias diagnósticas, de selección de pacientes y de tratamientos dirigidos (4).

En los CCR no hay todavía un método de despistaje que resulte completamente adecuado para el diagnóstico y pronóstico, ni hay tampoco un tratamiento que pueda considerarse uniformemente válido, salvo la cirugía. Pero si miramos al futuro, podemos afirmar sin miedo a equivocarnos que no trataremos los CCR como lo hacemos ahora. Seguirá predominando la cirugía, pero a través de abordajes mínimamente invasivos. Los avances paralelos en biología tumoral, técnicas de imagen radiológicas y tecnología quirúrgica sugieren que los procedimientos de ablación con energía, laparoscópicos, robóticos y percutáneos tendrán un mayor impacto a la hora de controlar tumores renales con menor morbilidad que la cirugía abierta. La investigación en las vías moleculares de los mecanismos de iniciación, desarrollo y metastatización en los CCR están dando lugar al desarrollo de nuevos fármacos específicos para estos tipos de tumores.

Hace ya más de cuarenta años se empezaron a aplicar métodos de citogenética molecular al estudio de diferentes tumores. Hagemeijer (5) en 1979 es el primero que describe la asociación de una anomalía de delección en el brazo corto del cromosoma 3 (3p) y un determinado tipo de tumor renal. En otras variantes Cohen et al (6) encontraron una translocación de 8q a la posición 3p, con delección del 3p original.

---

## EPIDEMIOLOGÍA

Un estudio estimaba que en Estados Unidos se diagnosticarían 63.920 pacientes con cáncer renal y fallecerían 13.860 en 2014 (7). Los CCR suponen el 3,8% de todos los nuevos cánceres con una media de edad al diagnóstico de 64 años. Las tasas de incidencia en Estados Unidos han sufrido un aumento de 1,6% por año entre (2002-2011) (8). Las causas de este aumento son desconocidas. Aproximadamente el 90% de los tumores renales son CCR y alrededor del 80% son CCR de células claras (CCRcc) (9). Según el análisis de la base de datos de la SEER (8), las tasas de supervivencia a 5 años han aumentado tanto de la enfermedad localizada (de 88,4% durante 1992-1995 a 91,8% durante 2004-2010) como de la enfermedad avanzada (de 7,3% durante 1992-1995 a 12,3% durante 2004-2010).

En 2012, hubo aproximadamente 84.400 nuevos casos de CCR y 34.700 muertes relacionadas con el cáncer renal en la Unión Europea (10).

En el año 2007 en España, murieron por cáncer renal 1.373 hombres (de un total de 199.652 muertes), con una edad media de 69,8 años y una tasa ajustada x 100.000 (población estándar europea) de 4,91. En el caso de las mujeres, fallecieron 643 (de un total de 183.597 muertes), con una edad media de 71 años y una tasa ajustada de 1,71 x 100.000 (11).

Es más frecuente en países industrializados que en los países en desarrollo (12,13) (Tabla I). Las áreas con mayor incidencia son Norte América,

Australia, Nueva Zelanda, países del este, oeste y norte de Europa destacando la República de Checoslovaquia. Las tasas de incidencia más bajas se encuentran en Asia y África.

**Tabla I.** Distribución geográfica CCR.<sup>12,13</sup>

<b>Incidencia CCR</b>	<b>PAÍSES</b>
<b>ALTA</b>	<b>Rep. Checa, Letonia, Lituania, Estonia, Islandia, Alemania, Austria, Francia, Bélgica, Australia, Nueva Zelanda, EEUU, Uruguay.</b>
<b>INTERMEDIA</b>	<b>Italia, Ucrania, Finlandia, Suiza, Reino Unido, Canadá, Japón, España.</b>
<b>BAJA</b>	<b>Venezuela, India, China, Portugal, Países de Asia y África.</b>

En la Tabla II se muestran los datos sobre incidencia de cáncer renal en los países de la Unión Europea estimada por la Agencia Internacional de Investigación del Cáncer (IARC) (13) para 2008.

**Tabla II.** Tabla de tasas de incidencia y mortalidad. 1. Número de nuevos casos estimados (por 100) en 2008 de cáncer de riñón. 2. Tasas de incidencia y mortalidad ASRs (Tasa estandarizada o ajustada por la edad por 100.000 personas-año), utilizando una población estándar europea.

País	HOMBRES			MUJERES		
	Nuevos Casos Estimad <sup>1</sup>	Tasa Incidencia ASRs <sup>2</sup>	Tasa Mortalidad ASRs <sup>2</sup>	Nuevos Casos estimad <sup>1</sup>	Tasa Incidencia ASRs <sup>2</sup>	Tasa Mortalidad ASRs <sup>2</sup>
Unión Europea	560,0	14,2	6,1	323,5	6,1	2,4
EU 27	457,5	15,8	6,5	258,7	7,1	2,7
Rep. Checa	18,9	33,6	12,6	11,2	15,0	5,3
Letonia	2,9	26,1	12,4	2,3	13,2	4,3
Lituania	3,9	24,8	11,9	2,6	11,0	4,3
Estonia	1,5	24,2	12,3	1,0	9,5	1,9
Alemania	116,2	21,7	7,6	70,2	10,2	3,1
Islandia	0,3	21,6	10,2	0,2	10,4	4,4
Eslovenia	2,0	18,2	7,3	1,0	6,4	3,2
Austria	8,7	18,0	6,3	5,8	9,1	3,1
Hungría	8,9	17,2	8,4	5,0	6,5	3,4
Croacia	4,3	16,8	7,7	2,7	7,8	2,3
Bélgica	10,3	16,2	4,9	6,5	8,3	2,8
Francia	55,9	15,9	6,3	25,2	5,7	2,5
Albania	2,0	15,7	6,8	1,5	10,4	3,6
Polonia	28,9	15,5	8,7	18,4	7,1	3,4
Noruega	4,1	15,3	6,0	2,5	7,5	2,8
Italia	58,9	15,2	5,0	29,5	6,1	2,0
Ucrania	29,7	13,8	6,8	20,2	6,5	2,4
Finlandia	4,4	13,8	6,1	3,5	8,3	2,8
Suiza	6,0	13,6	5,2	3,1	5,6	2,1
Irlanda	2,7	13,4	5,3	2,0	9,1	3,2
Holanda	12,5	13,3	8,9	7,7	7,0	4,2
Reino Unido	47,0	13,1	6,4	26,4	6,2	3,1
España	31,8	12,3	4,6	14,0	4,4	1,7
Suecia	6,4	10,8	6,2	4,4	6,6	3,6
Grecia	7,3	10,0	4,4	3,9	4,3	1,9
Portugal	4,3	7,2	3,5	2,5	3,4	1,2

Los varones representan dos tercios de los diagnósticos y de los fallecimientos por CCR (14).

Las tasas de incidencia en el CCR han aumentado constantemente desde los años 70, a pesar del aumento del número de nuevos casos y del número de muertes, las tasas de supervivencia a 5 años para el CCR han

mejorado. Los factores relacionados con esta mejora en las tasas de supervivencia son: los avances en las técnicas de imagen, el diagnóstico incidental y más precoz de los CCR, un mejor estadiaje, un mayor conocimiento de los factores pronósticos, un refinamiento en la técnica quirúrgica y el tratamiento quimioterápico en los casos de enfermedad avanzada. Según Pantuck et al. (15) al inicio de los años 1970 aproximadamente el 10% de los tumores eran diagnosticados incidentalmente comparado con el 61% de los tumores renales en 1998.

El estudio realizado por Chow et al. (16) publican un incremento del 3,9% y del 4,3% por año para los hombres y mujeres de raza negra comparado con el 2,3% y del 3,1% entre los hombres y mujeres de raza blanca respectivamente en Estados Unidos. El mayor aumento en las tasas de incidencia del CCR ocurrieron para los tumores localizados; sin embargo los tumores avanzados, incluidos aquellos con extensión regional y tumores con metástasis a distancia, también mostraron una mayor incidencia en todos los grupos por sexo y raza. Este aumento de las tasas de incidencia en todos los estadios tumorales del CCR junto con el aumento de las tasas de mortalidad por unidad de población sugiere un probable cambio en la biología tumoral del CCR desde los años 1970 o 1980 quizás provocados por factores ambientales como la dieta, el tabaco u otros factores cancerígenos. Las tasas de mortalidad del CCR presumiblemente serían mayores si no existiese el alto porcentaje de diagnósticos incidentales.

No se conoce la razón por la cual la raza negra ha presentado una mayor incidencia de CCR durante las últimas décadas. La razón más probable de esta disparidad debe ser algún cambio en la propia población afectada. Según Vaishampayan et al. (17) es posible que la exposición de esta población a factores de riesgo de CCR sea mayor. Factores de riesgo como la obesidad y la hipertensión son mucho más frecuentes en la población negra.

El cáncer renal afecta más a poblaciones urbanas que a comunidades rurales, lo que se ha relacionado con el número de cigarrillos fumados y a la mejor accesibilidad a centros sanitarios, sin embargo no se ha demostrado ninguna asociación entre indicadores socioeconómicos y/o educacionales con los CCR (18).



## FACTORES ETIOLÓGICOS

Aunque se han identificado numerosos agentes etiológicos en los modelos experimentales relacionados con el CCR, ningún agente específico ha sido implicado de manera definitiva como causante del mismo en el humano (19). Entre las causas que se han relacionado con la mayor incidencia de CCR, se encuentran (ver Tabla III) (20).

**Tabla III.** Factores de riesgo en el cáncer de células renales (CCR). (Vogelzang et al.<sup>20</sup>)

<i>Factores de riesgo</i>	<i>Riesgo relativo de cáncer renal (I.C.)</i>	<i>Nº de estudios</i>
<i>Enf. de Von Hippel-Lindau</i>	100	>5
<i>Enf. Quística-Diálisis crónica</i>	32	>5
<i>Obesidad</i>	3,6 (2,3 - 5,7)	>5
<i>Tabaco</i>	2,3 (1,1 - 5,1)	>5
<i>Familiar 1º grado con cáncer renal</i>	1,6 (1,1 - 2,4)	>5
<i>Hipertensión</i>	1,4 (1,2 - 1,7)	>5
<i>Trabajadores de tintorerías</i>	1,4 (1,1 - 1,7)	>5
<i>Diuréticos</i>	1,3 (1,07 - 1,52)	>5
<i>Exposición a tricloroetileno</i>	1,0 (0,7 - 9,66)	>5
<i>Radiación terapéutica</i>	1,1; 3,2; 8,1	3
<i>Fenacetinas</i>	1,1; 2,6; 6,0	3
<i>Riñones poliquísticos</i>	0,8; 2,0	2
<i>Exposición al cadmio</i>	1,0; 2,0; 3,9	3
<i>Exposición al asbesto</i>	1,1; 1,4; 1,8	3

El tabaquismo, la obesidad y la hipertensión son los tres factores de riesgo más asociados al CCR. Otra patología asociada al CCR es la enfermedad quística adquirida en pacientes sometidos a diálisis crónica.

**Tabaco:** Hunt et al. (21) en 2005 publicaron un meta-análisis revisando 19 estudios de casos y controles y 5 estudios de cohortes. En su comparación entre sujetos que habían fumado “alguna vez” o “nunca”, hallaron un riesgo relativo de CCR en los fumadores de 1,39 (IC del 95% 1,27-1,5). Se observaba además que el efecto era claramente dosis dependiente, con un mayor riesgo relativo en los fumadores de más de 20 cigarrillos día, frente a los de menos de 10. El abandono del tabaco disminuyó significativamente el riesgo relativo de CCR a partir de los 10 años, aunque esta diferencia sólo se observó en los varones.

**Obesidad:** La obesidad se considera desde hace tiempo un factor de riesgo importante para el desarrollo de CCR. Distintos estudios (22-24) señalan que el riesgo de CCR aumenta con el aumento del índice de masa corporal (IMC) que es la forma más frecuente de medir el sobrepeso. Calle et al. (23) responsabilizan a la función endocrina y metabólica del tejido adiposo. La obesidad puede aumentar la liberación de adipocinas y estas adipocinas podrían provocar aumento de la proliferación celular, disminución de la apoptosis y tumorigénesis. Según Gago-Domínguez et al. (25) la peroxidación de lípidos en los túbulos proximales renales podría ser carcinogénica, y el aumento de la biodisponibilidad de lípidos en los individuos obesos podría predisponerlos a sufrir un CCR.

**Hipertensión arterial:** Varios estudios han demostrado la asociación entre la hipertensión y el CCR. Chow et al. (22) observaron una correlación positiva entre el riesgo de CCR y las presiones diastólica y sistólica. Grossman

et al. (26) llevaron a cabo un meta-análisis a partir de 13 estudios de casos y controles longitudinales que demostraban asociación entre el CCR y la hipertensión. La *odds ratio* combinada ajustada para los pacientes hipertensos era de 1,75 (IC del 95% 1,6-1,9).

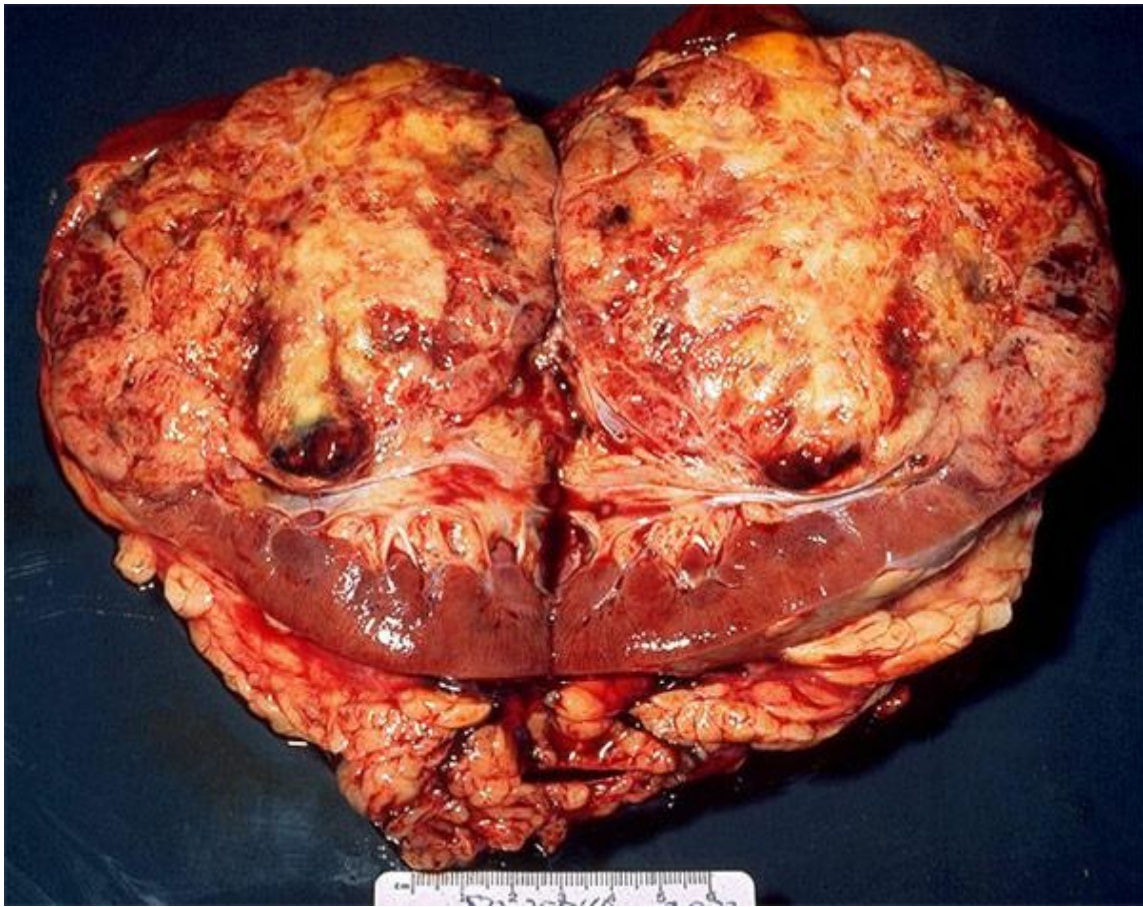
**Enfermedad quística adquirida:** Según Bonsib (27), la incidencia de enfermedad quística adquirida es proporcional al tiempo de diálisis con casi el 100% de los pacientes afectados a los 10 años. El trasplante renal parece reducir la incidencia de enfermedad quística adquirida (28). Esta entidad aparece en pacientes sometidos a diálisis de larga evolución y consiste en el desarrollo de múltiples quistes renales; el cáncer renal se produce en asociación con la hiperplasia papilar existente en el epitelio de estos quistes (27). El riesgo de desarrollar un carcinoma renal aumenta proporcionalmente con el tiempo de diálisis ya que el 35-47% de los pacientes en diálisis prolongada presentarán enfermedad quística y entre el 4-8% de éstos desarrollarán la neoplasia (27,29). Esto tiene capital importancia en pacientes sometidos a trasplante renal y, por lo tanto, en tratamiento inmunosupresor que favorece la aparición y desarrollo de neoplasias, por lo que debería ser obligado el seguimiento periódico de estas unidades renales (28,30).

---

# HISTOPATOLOGÍA DE LAS NEOPLASIAS RENALES

## 1. Características macroscópicas de los CCR

El aspecto macroscópico del CCR es redondeado, solitario, frecuentemente acompañado de zonas de hemorragia y/o necrosis y rodeado de una pseudocápsula de parénquima y tejido fibroso. La tumoración suele ser de color amarillento o marrón, dependiendo del contenido lipídico, y la consistencia es variable, mezclándose zonas fibrosas con áreas blandas que corresponden a hemorragias intratumorales o necrosis (31). El aspecto macroscópico descrito es quizás el más frecuente de los muchos que puede adquirir, ya que éste depende de sus elementos celulares y su distribución arquitectural, y así veremos que hay casos con aspecto levemente granular (los de patrón papilar), de coloración canela homogénea (los oncocíticos) e incluso blanquecinos (los sarcomatoides) (32).



**Figura 1.** Imagen macroscópica de un CCR de células claras.

## **2. Localización y Multifocalidad de los CCR**

El tumor no tiene tendencia a la lateralidad, ni preferencia por ningún polo renal (31). La bilateralidad se presenta entre 2-4% en los CCR esporádicos de forma sincrónica o asincrónica (33). La bilateralidad es más frecuente en el síndrome de von Hippel-Lindau (75% de los casos), en los cánceres renales familiares y en la enfermedad quística adquirida postdiálisis y CCR papilares (3, 31).

La multifocalidad oscila entre un 5%-25% (34,35), según la metodología del estudio macroscópico, ya que se ha comprobado que puede pasar desapercibido en un 38% de los casos, si no se realizan secciones cada 3 mm (36). Otro factor distorsionador de los resultados es la inexacta categorización de las lesiones (37). Los CCR papilares presentan una tendencia a la multifocalidad, alrededor de un 40% en muchas series (33) (probablemente por su relación con los adenomas papilares), en comparación con los no papilares 14,2% (36). Según Kletscher et al. (36) en el estudio preoperatorio puede detectarse hasta un 44% de los casos de multifocalidad.

Cheng et al. (34) analizaron citogenéticamente 26 casos de CCR de células claras y constataron que 12 de 26 casos (46%) tenían orígenes policlonales independientes debido a que dichos tumores presentaban distintas pérdidas alélicas y distintos patrones citogenéticos.

### **3. Clasificación de los tumores de células renales**

Tradicionalmente, el CCR se dividía en 4 tipos histológicos: células claras, células granulares, tubulopapilares y sarcomatoides. Desde comienzos de los años 90, la clasificación de los tipos histológicos ha sido sometida a una mayor revisión. Debido a los avances en la biología molecular y a una mejor discriminación de la histología y de las características ultraestructurales, Kovacs et al. (38) diseñaron una nueva clasificación en 1993. Esta clasificación fue revisada por Weiss et al. (39) en 1995 y posteriormente dio lugar a la clasificación de Heidelberg que está basada en los conocimientos de la

genética molecular y correlacionada con los hallazgos histológicos y fue el resultado de una reunión de trabajo celebrada en Heidelberg bajo el título “Impacto de la genética molecular en la clasificación de los tumores de células renales” (40).

En 1997 en Minnesota tuvo lugar la 1ª Reunión Internacional Multidisciplinaria en relación con el Diagnóstico y Pronóstico del Carcinoma de Células Renales (CCR). Esta reunión fue celebrada por la Organización Mundial de la Salud (OMS) en colaboración con la Unión Internacional Contra el Cáncer (UICC), el Comité Americano Contra el Cáncer (AJCC), la Clínica Mayo, la Fundación Mayo, la Fundación del Noroeste del Pacífico contra el Cáncer y otros grupos sponsor. Se crearon distintos grupos de trabajo para tratar distintas facetas del carcinoma de células renales.

El Grupo de trabajo N° 1 liderado por Störkel et al. (41) fue el encargado de realizar una clasificación de las neoplasias epiteliales del parénquima renal. Los tumores renales se clasificaron según se describe en la Tabla IV.

**Tabla IV.** Clasificación de los tumores epiteliales del parénquima renal según UICC y AJCC (1997).

<b>Neoplasias Benignas</b>	<b>Adenoma Papilar</b> <b>Oncocitoma</b> <b>Adenoma Metanéfrico</b> <b>Adenofibroma Metanéfrico</b>
<b>Neoplasias Malignas</b>	<b>CCR Células Claras</b> <b>CCR Papilar</b> <b>CCR Cromóforo</b> <b>CCR de Túbulo Colector</b> <b>CCR Inclasificable</b>

En los primeros trabajos, el grupo de la Dra. Maestro et al. (42) utilizamos la clasificación de WHO modificada de 1981 (2), en los siguientes trabajos (43), la clasificación de la UICC y la AJCC de 1997.

La WHO en el 2004 (Tabla V) realizó una nueva revisión de la clasificación histológica de todos los tumores renales en el adulto basada en los análisis clínicos, patológicos y genéticos (3,44). Esta clasificación es la que hemos utilizado en nuestro estudio.

Recientemente se reunió la International Society of Urological Pathology (ISUP) en Vancouver (45) y propusieron una serie de nuevos tumores epiteliales y otras entidades provisionales o emergentes para añadir o modificar a la clasificación de la WHO de 2004 (Tabla VI) y (Tabla VII).



**Tabla V.** Clasificación Histológica de los tumores de riñón de la WHO<sup>3</sup> de 2004.

<b>Tumores de células renales</b>		Hemangiopericitoma	9150/1
CCR de células claras	8310/3	Osteosarcoma	9180/3
Carcinoma quístico multilocular	8310/3	Angiomiolipoma	8860/0
CCR papilar	8260/3	Angiomiolipoma epiteloide	
CCR cromóforo	8317/3	Leiomioma	8890/0
Carcinoma de los ductos de Bellini	8319/3	Hemangioma	9120/0
Carcinoma medular renal	8319/3	Linfangioma	9170/0
Carcinomas con translocación Xp11		Tumor de cels. yuxtglomerular	8361/0
Carcinoma asociado con neuroblastoma		Tumor Renomedular de célula intersticial	8966/0
Carcinoma mucinoso tubular y de céls. fusiformes		Schwanoma	9560/0
CCR inclasificable	8312/3	Tumor Fibroso Solitario	8815/0
Adenoma Papilar	8260/0		
Oncocitoma	8290/0	<b>Tumores mesenquimales y epiteliales mixtos</b>	
		Nefroma quístico	8959/0
<b>Tumores Metanéfricos</b>		Tumor del estroma y epiteliales mixtos	
Adenoma Metanéfrico	8325/0	Sarcoma Sinovial	9040/3
Adenofibroma Metanéfrico	9013/0		
Tumor del estroma Metanéfrico	8935/1	<b>Tumores Neuroendocrinos</b>	
		Carcinoide	8240/3
<b>Tumores Nefroblásticos</b>		Carcinoma Neuroendocrino	8246/3
Restos Nefrogénicos		Tumor neuroectodérmico Primitivo	9364/3
Nefroblastoma	8960/3	Neuroblastoma	9500/3
Nefroblastoma quístico parcialmente diferenciado	8959/1	Feocromocitoma	8700/0
<b>Tumores Mesenquimales</b>		<b>Tumores Linfoides y Hematopoyéticos</b>	
<i>Ocurren Principalmente en Niños</i>		Linfoma	
Sarcoma células claras	9044/3	Leucemia	
Tumor Rabdoide	8963/3	Plasmocitoma	9731/3
Nefroma Mesoblástico Congénito	8960/1		
Tumor osificante renal infantil	8967/0	<b>Tumores de células germinales</b>	
<i>Ocurren Principalmente en Adultos</i>		Teratoma	9080/1
Leiomiomasarcoma (Incluida vena renal)	8890/3	Coriocarcinoma	9100/3
Angiosarcoma	9120/3	<b>Tumores Metastáticos</b>	
Rabdomiosarcoma	8900/3		
Histiocitoma fibroso Maligno	8830/3		

Código Morfológico de la Clasificación Internacional de Enfermedades Oncológicas (ICD-0) {808} y de la Nomenclatura Sistematizada de Medicina (<http://snomed.org>). El comportamiento se codifica como: 0 para tumores benignos, 3 para tumores malignos y / 1 comportamiento borderline o incierto.

**Tabla VI.** Recomendaciones de la ISUP en 2013<sup>45</sup>

Propuesta de Nuevos Tumores Epiteliales y Entidades Tumoraes Emergentes/Provisionales
<b>Nuevos Tumores Epiteliales</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Carcinoma de células renales Tubuloquístico</li> <li>- Carcinoma de células renales asociado a enfermedad quística adquirida</li> <li>- Carcinoma de células renales de células claras (túbulo) papilar</li> <li>- Carcinoma de células renales con translocación MiT familiar               <ul style="list-style-type: none"> <li>-Carcinoma de células renales con translocación Xp11</li> <li>-Carcinoma de células renales con translocación t(6;11)</li> </ul> </li> <li>-Carcinoma de células renales asociado al síndrome de leiomiomatosis Hereditaria y carcinoma de células renales</li> </ul>
<b>Entidades Emergentes/Provisionales</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Carcinoma de células renales similar tiroides-folicular</li> <li>- Carcinoma de células renales asociado a deficiencia de Succinato Deshidrogenasa B</li> <li>- Carcinoma de células renales con translocación ALK</li> </ul>

**Tabla VII.** Modificación de la ISUP Vancouver (2013) a la Clasificación Histológica de los Tumores de células renales de la WHO (2004)<sup>45</sup>

<b>Tumores de células renales</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>Adenoma Papilar</li> <li>Oncocitoma</li> <li>CCR de células claras               <ul style="list-style-type: none"> <li>CCR de células claras quístico multilocular (bajo potencial maligno)</li> </ul> </li> <li>CCR papilar               <ul style="list-style-type: none"> <li>CCR papilar Tipo 1</li> <li>CCR papilar Tipo 2</li> </ul> </li> <li>CCR cromóforo               <ul style="list-style-type: none"> <li>Tumor híbrido oncocítico-cromóforo</li> </ul> </li> <li>Carcinoma de los ductos colectores de Bellini</li> <li>Carcinoma medular renal</li> <li>CCR translocación familiar MiT               <ul style="list-style-type: none"> <li>CCR translocación Xp11</li> <li>CCR translocación t(6;11)</li> </ul> </li> <li>Carcinoma asociado con Neuroblastoma</li> <li>Carcinoma mucinoso tubular y de células fusiformes</li> <li>CCR Tubuloquístico</li> <li>CCR asociado a enfermedad quística adquirida</li> <li>CCR (túbulo) papilar de células claras</li> <li>CCR asociado al síndrome de leiomiomatosis hereditaria y CCR</li> <li>CCR inclasificable</li> </ul>
---

### **3.1 Neoplasias benignas**

El clásico dilema adenoma-carcinoma en relación a si existen los adenomas; y si existen, como distinguirlos de los carcinomas, continúa. Se han ido delimitando cierto tipo de lesiones dentro del grupo de las neoplasias benignas, distinguiéndose 3 tipos: adenomas papilares corticales, oncocitomas y los adenomas metanéfricos.

#### **3.1.1 Adenoma papilar**

El adenoma papilar es la neoplasia más frecuente del epitelio tubular renal y es un hallazgo incidental frecuente en riñones adultos. Los criterios diagnósticos aceptados en Rochester (41) fueron: 1) lesiones menores o igual a 5mm de diámetro, 2) arquitectura túbulo-papilar que carece de pleomorfismo nuclear y de actividad mitótica, 3) histológicamente no sea semejante a CCR de células claras, cromóforo o CCR ductos colectores. Su morfología microscópica se parece al carcinoma de células renales papilar de grado bajo; realmente no existen criterios citológicos para distinguir estas lesiones de pequeños carcinomas.

Los microadenomas papilares corticales podrían considerarse lesiones precursoras de ciertas variantes de carcinoma renal. Su incidencia se cifra alrededor del 4% en estudios de necropsia (46) y se caracterizan por ser milimétricos, bien delimitados pero no encapsulados y siempre micropapilares

de células basófilas y sin atipia celular. En muchas ocasiones, estos adenomas son múltiples en riñones con carcinoma papilar mientras que son excepcionales en los riñones con un carcinoma no papilar. Además el perfil inmunohistoquímico y el análisis del ADN los asemeja a dichos carcinomas.

**Alteraciones genéticas** (Ver Tabla VIII): Las alteraciones genéticas de este tipo de neoplasias incluyen trisomías de los cromosomas 7, 17 y pérdida del cromosoma Y (47). Los análisis genéticos y clinicopatológicos sugieren que no es el tamaño sino las alteraciones genéticas, las que determinan el comportamiento de estos tumores (48). Sin embargo, actualmente no es posible diferenciar adenomas papilares y carcinomas papilares por sus cambios genéticos, porque hay carcinomas que presentan muy pocas alteraciones genéticas (3).

### **3.1.2 Oncocitoma renal**

Constituye entre un 3,2-7% del contingente de neoplasias corticales renales (49,50). La histogénesis continúa siendo cuestionada, pero la presencia de luces intracitoplasmáticas, las peculiaridades histoquímicas y el patrón de filamentos intermedios, así como de los anticuerpos monoclonales; apoyan que su origen sean las células intercalares de la corteza renal, al igual que en el carcinoma cromóforo, lo que induce a pensar que puedan ser dos formas distintas de tumor con un mismo origen celular (32,51).

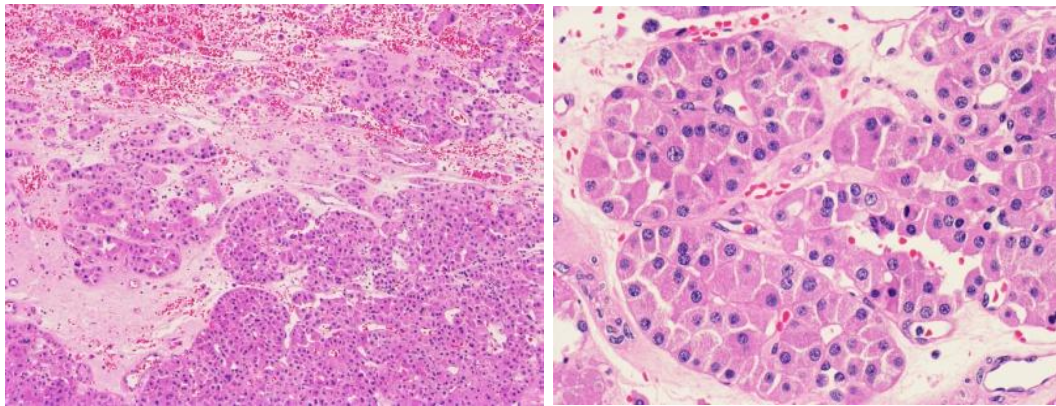
El oncocitoma es un tumor benigno y los casos que se han publicado con metástasis podrían ser en realidad carcinomas cromófobos con apariencia oncocítica o CCR de células claras con abundante citoplasma eosinófilo (52). Sin embargo no se puede diagnosticar preoperatoriamente con certeza un oncocitoma y los métodos de punción-aspiración o congelación intraoperatoria no son suficientemente fidedignos (33).

El oncocitoma se caracteriza por un crecimiento lento y armónico, por lo que el aspecto es homogéneo, no suele presentar focos de hemorragia o necrosis y comprime más que invade, formándose una tumoración bien delimitada, no encapsulada y redondeada. Son raros los cambios mitóticos y pequeños focos de necrosis pero se han descrito algunos casos (3). La característica coloración parda o canela no es exclusiva y la comparte con el carcinoma cromóforo; por otra parte la peculiar “cicatriz” central que está muy apreciada como signo identificador, carece de especificidad (32,52). Estas células son algo menores que las claras, de contornos levemente redondeados o poligonales y con un característico citoplasma eosinófilo-homogéneo, consecuencia de la gran cantidad de mitocondrias. La eosinofilia citoplasmática, por la presencia de abundantes mitocondrias, no es un fenómeno exclusivo de los oncocitomas, ya que está presente en los CCR de células claras con citoplasma eosinófilo así como en los carcinomas cromófobos eosinofílicos, por lo que se deben definir unos criterios diagnósticos. Los núcleos son homogéneos, redondos, centrales, de cromatina fina y nucléolo pequeño. La actividad mitótica es muy escasa y no son

aceptables mitosis atípicas. Ultraestructuralmente no se han de hallar gotas lipídicas o de glucógeno entre las mitocondrias (32).

Un 4-6% de los casos son bilaterales y el 2,5-13% multifocales (53,54). En 1982, Warfel y Eble (55) describieron la oncocitomatosis renal al encontrar más de doscientos focos de oncocitomas renales en un paciente de manera bilateral. Estos autores proponen oncocitomatosis renal como término más apropiado para esta entidad, puesto que los riñones afectados muestran una gran variedad de cambios oncocíticos celulares en los túbulos, más que oncocitomas propiamente dichos.

Ticko et al. (56) describieron un grupo de pacientes con múltiples lesiones oncocíticas (oncocitosis) y entre otras características morfológicas típicas, algunos presentaban una morfología híbrida entre oncocitomas y CCR cromóforos, lo que sugiere que estos tumores podrían estar genética o etiológicamente relacionados. Es probable que muchos de estos pacientes pertenecieran a familias afectadas por el Síndrome de Birt-Hogg-Dube.



**Figura 2:** Histología de un oncocitoma.

**Alteraciones genéticas** (Ver Tabla VIII): Citogenéticamente se han descrito distintos subgrupos de oncocitomas (57): aquellos con pérdidas de los cromosomas 1 y/o Y (58), otros oncocitomas menos frecuentes son aquellos con translocaciones entre el brazo largo del cromosoma 11, en la región 11q13 (59) y otros cromosomas como el cromosoma 9 t(9;11)(p23;q13) (60) o el cromosoma 5 t(5;11)(q35;q13) (61). En la región 11q13 se localizan genes que codifican proteínas mitocondriales (UCP2, UCP3, NDUFV2, SDHD). Otro grupo son los oncocitomas con un cariotipo normal o más heterogéneo. En este último grupo, el subgrupo más amplio son los oncocitomas sin anormalidades cromosómicas detectables mientras otros tumores tienen una variedad de monosomías, trisomías y pérdidas selectivas de 17q, 17p, 10q y raramente 3p (62).

Yusenko et al. (63) determinaron pérdida de heterocigosidad (LOH) del cromosoma 1 en 10/42 (23%) de los oncocitomas y en 28/30 (93%) de los CCR cromóforos mientras que las monosomías de los cromosomas 2, 10, 13, 17 y 21 ocurrían exclusivamente en los CCR cromóforos. Basados en estos

hallazgos concluyen que en casos de dudoso o difícil diagnóstico diferencial, se podrían utilizar sondas de ADN para detectar dichas alteraciones.

### **3.1.3 Adenoma metanéfrico (adenoma embrionario, nefroma nefrogénico) y adenofibroma metanéfrico (adenofibroma nefrogénico)**

Los adenomas metanéfricos son neoplasias benignas de la corteza renal, poco frecuentes (<1%). Estas neoplasias constan predominantemente de pequeños túbulos revestidos de células epiteliales cuboideas que muestran mínimo pleomorfismo y recuerdan al tejido metanéfrico embrionario (3, 41 y 52). El verdadero origen de estas células aún es desconocido. La mayor parte del tumor está constituido por estos pequeños túbulos que se disponen densamente apretados, incluso colapsados, aunque a veces pueden mostrar áreas con pequeñas papilas con eje conjuntivo vascular y estructuras glomeruloides. Los cuerpos de psanoma son frecuentes. Por definición no contienen ni blastema, ni restos nefrogénicos. Los diagnósticos diferenciales más importantes que plantea son con el CCR papilar "sólido" y el tumor de Wilms (52). El término "metanéfrico" carece de precisión porque todas las neoplasias del riñón humano son tumores metanéfricos (41).

El adenofibroma metanéfrico es un tumor bifásico compuesto por un componente epitelial idéntico al del adenoma metanéfrico y un componente mesenquimal que consiste en células semejantes a los fibroblastos de



apariencia benigna, que se disponen en fascículos entrelazados con hialinización y cambio mixoide focal (49).

**Alteraciones genéticas** (Ver Tabla VIII): Algunos investigadores muestran leves variantes o cariotipos normales (64,65). Otros en cambio han encontrado trisomías de los cromosomas 7, 17 y pérdida de cromosomas sexuales, por lo que sugieren una estrecha relación entre el adenoma metanéfrico y los CCR papilares (66). Pesti et al. (67) estudiaron doce adenomas metanéfricos y delimitaron una región entre los locus D2S2153 y D2S380 en el cromosoma 2p13 donde puede residir un gen tumoral supresor relacionado con estos tumores. Lerut et al. (68) describen los hallazgos de un adenoma metanéfrico en una embarazada y el análisis del cariotipo del tumor fue 46 XX, t(1;22)(q22;q13),t(15;16)(q21;p13). Y Rakheja et al. (69) describen los hallazgos citogenéticos de un adenoma metanéfrico en un niño, encontrando una t(9;15)(p24;q24) y una inversión paracéntrica equilibrada del cromosoma 12.

**Tabla VIII.** *Neoplasias benignas y sus alteraciones genéticas.*

	Origen celular	Alteraciones Genéticas
<b>Adenoma Metanéfrico</b>	Incierto	Trisomías 7,17 Delección Y Delección 2p13
<b>Adenoma Papilar</b>	Túbulo contorneado proximal ? Túbulo contorneado distal ?	Trisomías 7,17 Delección Y
<b>Oncocitoma Renal</b>	Células intercalares ? Túbulos contorneados distales ?	Cariotipos normales Delecciones 1p,14q,Y Translocaciones 11q13 Alteraciones ADN mitocondrial

## 3.2 Neoplasias malignas

### 3.2.1 Carcinoma células renales de células claras (CCRcc)

Es el carcinoma más frecuente del epitelio tubular renal, representa aproximadamente del 65%-80% de los casos de las series quirúrgicas y su origen es el túbulo proximal (3, 9, 41, 49, 70, 71, 72, 73, 74).

Histológicamente la mitad de los casos tienen un único patrón arquitectural sólido o acinar (alveolar). El resto de los casos muestran una mezcla de patrones; quístico, papilar-pseudopapilar, tubular o sarcomatoide. Son posibles los cambios degenerativos con áreas de necrosis, fibrosis e

hialinización, depósitos de hemosiderina, cristales de colesterol y calcificaciones. Un dato histológico característico de los CCRcc es la presencia de una red de vasos capilares sinusoidales muy prominente. Estos vasos son muy delicados y de un calibre uniformemente pequeño (52).

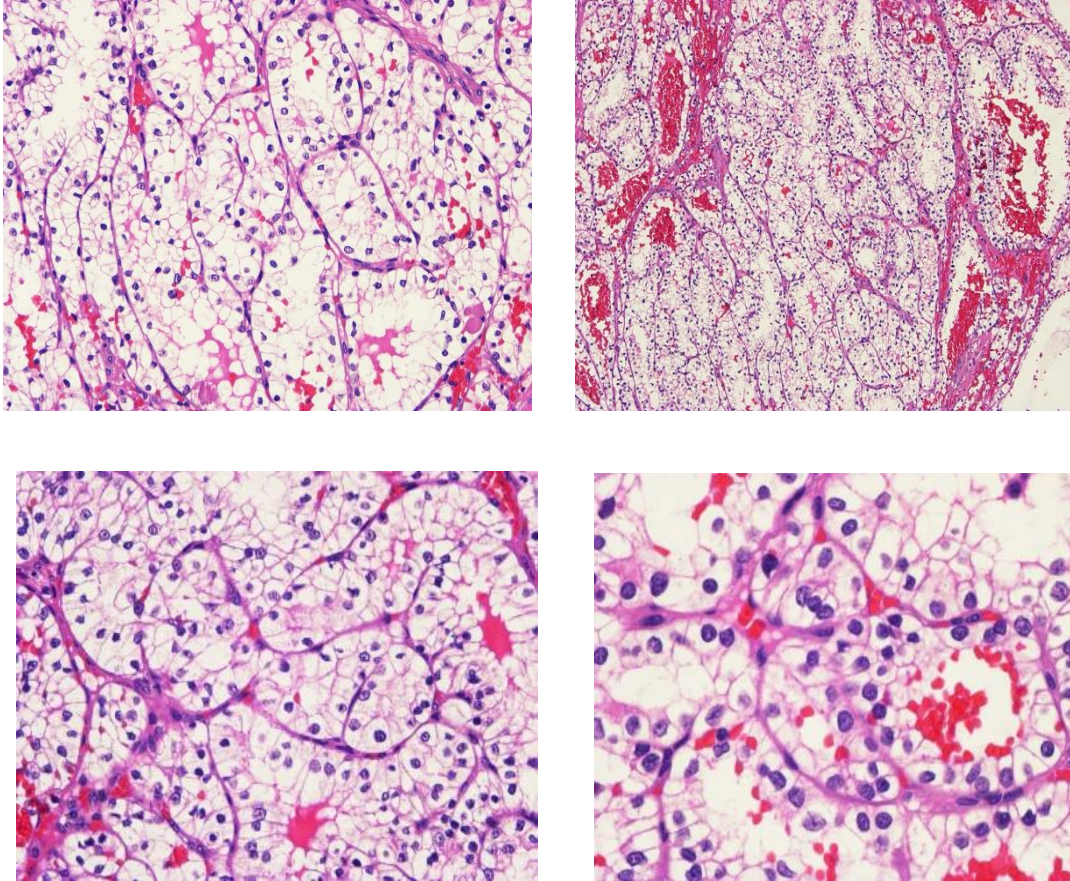
Las células tumorales tienen un contorno poligonal o cuboideo preciso, núcleo central, citoplasma amplio y de aspecto “acuoso” o “vacío”, secundario a la disolución (por el procesamiento del tejido) del abundante glucógeno que contienen; con microscopía electrónica se observan escasas organelas y mitocondrias en el citoplasma. El tamaño nuclear oscila según la agresividad de la neoplasia. En ocasiones existen focos de células de tamaño igual o ligeramente menor con un característico citoplasma eosinófilo, levemente granular, secundario a la abundancia de mitocondrias, este patrón citológico es lo que denominábamos previamente como “células granulares” (32).

Los cambios sarcomatoides ocurren en el 5% de estos carcinomas (3,41) y suelen tener muy mala evolución y pronóstico.

Según Moch et al. (75) alrededor del 50% de los CCRcc son estadios 1 y 2, menos de un 5% son estadio 4 y alrededor de un 45 % tienen invasión de la grasa perirrenal o afectación de la vena renal.

Tsui et al. (76) realizan un estudio multivariante en 643 pacientes tratados (1987-1998) usando los criterios del TNM de 1997 y encuentran unas

tasas de supervivencia a 5 años de 94%, 71%, 67% y 32% para los estadios I, II, III y IV.



**Figura 3.** Histología de uno de los CCR de células claras.

**Alteraciones genéticas** (Ver tablas IX y X): Este tipo de tumores renales se separó de otros, basado en la alta frecuencia de deleciones específicas en el brazo corto del cromosoma 3 (3p) (77). Una de las principales alteraciones descritas en el cromosoma 3 son las mutaciones del gen VHL (49). También se han descrito duplicaciones de material genético del brazo largo del cromosoma 5 (5q), aunque hasta la fecha no se ha encontrado ningún proto-oncogén candidato en 5q (78,79).

Los CCR de células claras en grados y estadios más avanzados presentan una serie de pérdidas en distintos locus cromosómicos que incluyen 8p, 9p y 14q además de 6q y 17p (80,81).

La pérdida del cromosoma Y se ha observado en el 26% de CCR de células claras en hombres; estos resultados son similares a otros tipos de tumores en pacientes ancianos (82).

### **3.2.2 Carcinoma células renales quístico multilocular (CCR quístico-multilocular)**

Es un tumor compuesto en su totalidad de numerosos quistes, los tabiques de los cuales contienen grupos pequeños de células claras indistinguibles del carcinoma de células claras grado I (3). Considerado de bajo potencial maligno. Representa aproximadamente el 4% de los CCR de células claras (45).

**Alteraciones genéticas** (Ver tablas IX y X). Los estudios genéticos realizados vinculan claramente a los CCR quísticos multiloculares con los CCR de células claras observando deleciones en el cromosoma 3p en el 74% de los CCR multiloculares quísticos y mutaciones del gen VHL en el 25% de los casos (83,84).

---

### 3.2.3 Carcinoma células renales papilar (CCR papilar)

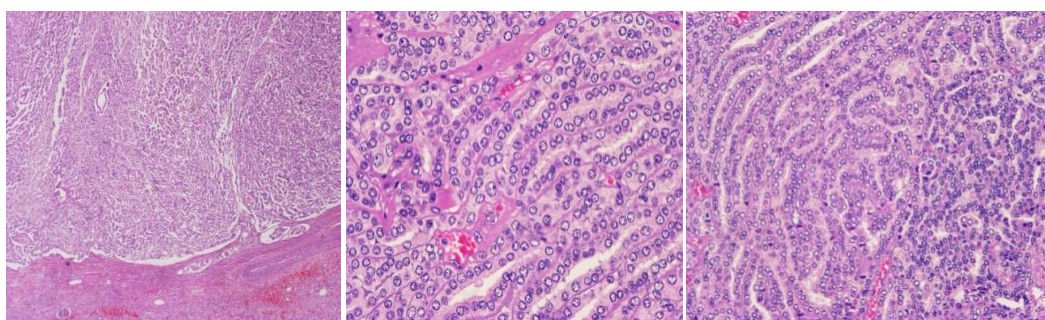
Constituye del 6 al 18% de los CCR, es el segundo tipo más frecuente de CCR y generalmente predomina una arquitectura papilar (3, 41, 45, 52, 70, 71, 73, 74). El dato histológico clave que define una papila es la presencia de un eje central conectivo-vascular rodeado de células neoplásicas. La cantidad de componente papilar necesaria para clasificar a un tumor renal como CCR papilar es todavía hoy objeto de controversia (41).

El debate que iniciara Mancilla-Jiménez (85) en 1976 sobre el carcinoma papilar renal aún no se ha resuelto y para algunos autores la clasificación histológica del cáncer renal se hace de acuerdo con el tipo celular y no en cuanto a su estructura.

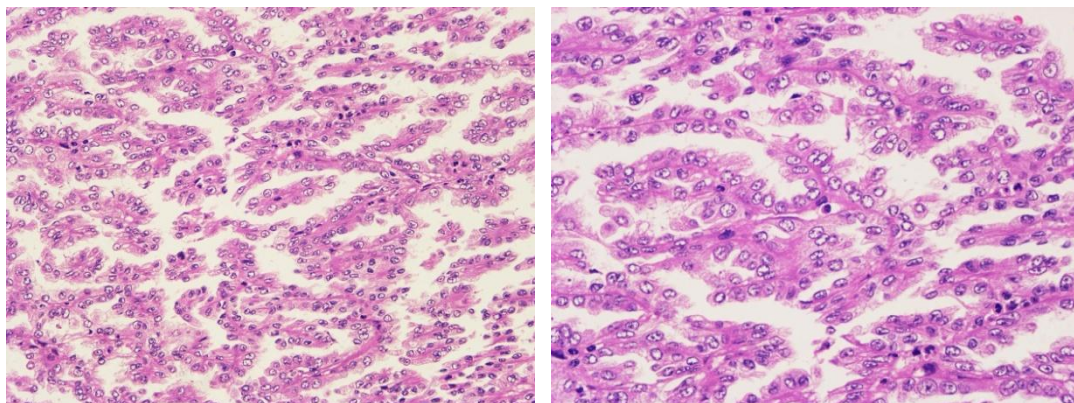
En la mayoría de las series amplias y bien estudiadas, el CCR papilar es menos agresivo que el CCR de células claras, con supervivencias a los 5 años del 80 al 85%. Los CCR papilares son más frecuentemente bilaterales y multifocales que otros subtipos histológicos de CCR (70, 75, 86). Las células que revisten a las papilas pueden ser cuboideas o columnares. Delahunt y Eble (87,88) describen dos subtipos de CCR papilar con diferentes comportamientos clínicos. El tipo 1, son células cuboideas o columnares, las papilas suelen estar cubiertas por pequeñas células con escaso citoplasma, dispuestos en una sola capa sobre la membrana basal papilar. Otros hallazgos que se podrían encontrar en el tipo 1 son los cuerpos de psamnoma y



agregados de macrófagos y tendría mejor pronóstico que el tipo 2 cuyas células tumorales tienen un marcado pleomorfismo nuclear a menudo de alto grado nuclear con prominente nucléolo y núcleos pseudoestratificados con citoplasma grande y eosinófilo. Los tumores del tipo 1 son más frecuentemente multifocales (3,45) y se diagnostican en estadios y grados menores que el tipo 2, por lo que el tipo 1 presenta mejores tasas de supervivencia que el tipo 2 (75, 86).



**Figura 4.** CCR papilar Tipo 1.



**Figura 5.** CCR papilar Tipo 2.

La subclasificación de los CCR papilares se ha completado aún más con la reciente identificación de nuevos tumores que se han propuesto como nuevas formas de CCR y que imitan o tienen muchas características similares

a los CCR papilares. Estos son los CCR tubulopapilares de células claras, los CCR tubuloquísticos y los CCR mucinoso tubulares y de células fusiformes (45,89).

**Alteraciones genéticas** (Ver tablas IX y X). Las alteraciones cromosómicas más consistentes en este tipo de tumores son trisomías de los cromosomas 3q, 7, 12, 16, 17 y 20 así como la pérdida del cromosoma Y (47, 90). Las trisomías de los cromosomas 7 y 17 junto con la pérdida del cromosoma Y son las alteraciones más frecuentes también observadas en los adenomas papilares. La progresión de adenoma papilar a carcinoma podría estar marcada citogenéticamente por la incorporación de trisomías en los cromosomas 12, 16 y 20 (48,91).

En el CCR papilar se han descrito sobreexpresiones del proto-oncogén MET que se localiza en 7q31 tanto en casos hereditarios como en casos esporádicos (92-95), lo que podría estar en relación con las polisomías en el cromosoma 7 (96).

Entre los subtipos histológicos descritos por Delahunt y Eble, la histología tipo 1 es más rara, está asociada a mutaciones de c-MET, y es vista en el CCR papilar familiar y ocasionalmente en CCR papilar esporádicos. El tipo 2 de los CCR papilares no presenta mutaciones de c-MET y es el tipo más común en los casos esporádicos (97). Se han descrito mutaciones del gen de la fumarato hidratasa (FH) asociadas con un subgrupo de CCR papilares tipo 2 (98).



Varios estudios (99-101) han demostrado que los CCR papilares tipo 1 y tipo 2 tienen diferente genotipo mientras que los tipo 1 muestran ganancias del 7p y 17p, los CCR papilares tipo 2 presentan desequilibrios alélicos en uno o más cromosomas 1p, 3p, 5, 6, 8, 9p, 10, 11, 15, 18 y 22.

La clasificación genética que distingue a los CCR de células claras del resto de CCR por las alteraciones cromosómicas a nivel del brazo corto del cromosoma 3 es cuestionada por algunos investigadores (102, 103, 104). Velickovic et al (103) encuentran una pérdida de heterocigosidad 3p en el 59% de CCR papilares, en el 86,6% de CCR cromóforos y en el 75,8% de los CCR de células claras estudiando el gen VHL y el locus de FHIT pero no observaron pérdida del cromosoma 3p.

### **3.2.4 Carcinoma de células renales cromóforo (CCRcr)**

Representa del 5 al 10% de los casos en la mayoría de las series quirúrgicas y su origen esté probablemente en las células intercalares de los túbulos colectores o en la zona cortical de los túbulos colectores (3, 32, 41, 49, 52, 70, 72,74).

Este tipo celular fue descrito por Bannasch en 1974, en ratas y posteriormente por Thoenes et al (105) en 1985, en el humano. Estos tumores presentan una coloración homogénea marrón claro pardo, así como en ocasiones un área fibrosa “cicatricial” central.

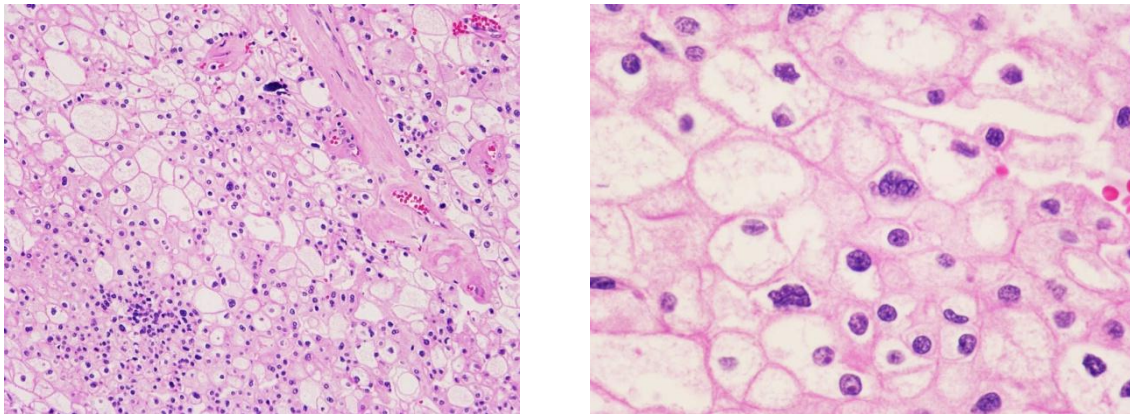
Son unas células de gran tamaño (comparándolas con las células claras), redondas o poligonales, de contornos bien definidos, que le confieren un aspecto que recuerda a las células vegetales, cuyo citoplasma es finamente reticular por las microvesículas que contiene. Histoquímicamente se ha observado que se tiñe todo el citoplasma con el hierro coloidal (tinción de **Hale**), mientras que en las otras células sólo se tiñe la superficie (105), sin embargo existe bastante superposición en la tinción con otras neoplasias renales.

El mismo grupo de Thoenes (106) describe dos tipos celulares: el clásico o típico y el eosinófilo. Uno de los mayores cambios que introdujo esta nueva clasificación, basados en unos bien definidos criterios histológicos y ultraestructurales, ha sido la reclasificación de los tumores de células granulares en: CCR de células claras con citoplasma eosinófilo, CCR cromóforos u oncocitomas fundamentalmente.

Es importante diferenciar al CCR cromóforo del CCR de células claras con citoplasma eosinófilo ya que, a igual grado y estadio clínico, el pronóstico es mejor en el CCR cromóforo que en el CCR de células claras (49). Esta aparente menor agresividad ha de ser confirmada con estudios multivariantes y seguimientos prolongados.

La mayoría de los CCR cromóforos son estadio T1 y T2 (86%), mientras que solo el 10% mostrarán extensión perirrenal y solamente el 4% tendrán afectación de la vena renal (86, 107, 108). Pocos casos son los que dan

afectación linfática y metástasis a distancia. En un 8,7% de los casos hay áreas sarcomatoides (109). Los CCR cromófobos suelen tener mejor pronóstico que los CCRcc y los CCR papilares (110).



**Figura 6.** Histología de CCR cromóforo.

**Alteraciones genéticas** (Ver tablas IX y X): Genéticamente los carcinomas cromófobos se caracterizan por la pérdida de la heterocigosidad en los cromosomas 1, 2, 6, 10, 13, 17, y 21 así como por una hipodiploidía del contenido de ADN en la citometría de flujo (111-113). También se han descrito alteraciones en el patrón de restricción del ADN mitocondrial (114). La pérdida de heterocigosidad (LOH) en el cromosoma 17 se ha relacionado con el Sd. de Birt-Hogg-Dube (115,116). Sükösd et al. (117) demostraron pérdida de heterocigosidad alrededor del gen PTEN en la región cromosómica 10q23.37.

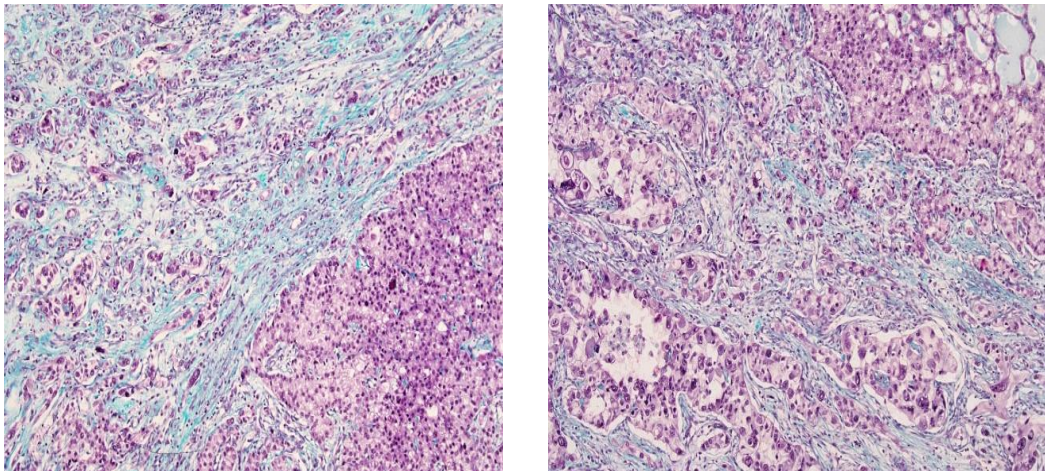
### **3.2.5 Carcinoma de células renales de los ductos colectores (CCR de los ductos colectores de Bellini)**

Son tumores que se cree derivan de los ductos colectores de la médula renal y representan menos del 1% de los CCR (3, 41, 52, 70, 71, 72, 74). Los pacientes ocasionalmente pueden presentar citología urinaria positiva para carcinoma urotelial (3).

Actualmente para diagnosticar un CCR de ductos colectores, se han establecido una serie de criterios: (1) por lo menos alguna lesión involucra la región medular; (2) hay una formación predominante de túbulos; (3) existe una reacción estromal desmoplásica; (4) Las características citológicas son de alto grado; (5) el patrón de crecimiento es infiltrante; y (6) hay una ausencia de otros subtipos de CCR típicos o de carcinoma urotelial (45, 118,119).

En el perfil inmunohistoquímico de los CCR de los ductos colectores existe una superposición evidente con los carcinomas uroteliales (45).

La mayoría de los CCR de ductos colectores son tumores muy agresivos con metástasis al diagnóstico en más de un tercio de los casos (3). La edad media de presentación son 55 años, con una proporción de varones/mujeres de 2:1(119). Pepek et al. (120) publican unas tasas de supervivencia relativa a 3 años para la enfermedad localizada, regional y a distancia de 93%, 45% y 6% respectivamente ( $p<0,001$ ), aunque la mayoría de pacientes se presentaban con estadios T3 y T4.



**Figura 7.** Histología CCR de los túbulos colectores de Bellini.

**Alteraciones genéticas** (Ver tablas IX y X): Hay muy pocos estudios citogenéticos. Fuzesi et al. (121) encontraron monosomías de los cromosomas 1, 6p, 13q, 14, 15, 21q y 22. Steiner et al. (122) objetivaron una pérdida de la heterocigosidad en el cromosoma 1q en 10/18 casos, posteriormente localizaron el área de delección en 1q32.1-32.2. Se han descrito pérdidas del brazo corto del cromosoma 3 en los CCR de ductos colectores (123,124). Fogt et al. (125) publicaron una pérdida de heterocigosidad del 55% de los tumores en el gen VHL, 50% 9p21; 18,7% p53 y 25% 13q. Schoemberg et al. (126) sugieren que LOH 8p podría estar asociado con un estadio más avanzado y peor pronóstico del paciente.

### 3.2.6 Carcinoma renal medular (CCR medular)

Davis et al. (127) en 1995, describen el carcinoma renal medular en niños y jóvenes descendientes de familias afro-americanas con rasgo falciforme, hemoglobina SC o, muy raramente, enfermedad de células falciformes. Se cree que estos tumores derivan de las porciones más distales de los ductos colectores. Para algunos autores (119,128,129); el CCR medular es una variante particularmente agresiva del CCR de ductos colectores, ya que ambos tumores comparten muchos datos morfológicos. La supervivencia media descrita en las dos series más numerosas hasta ahora, ha sido de 15 semanas y 4 meses respectivamente (127,129).

**Alteraciones genéticas** (Ver tablas IX y X): Es muy escasa la información sobre las alteraciones genéticas de este tumor. No se ha observado ninguna alteración molecular o cromosómica consistente en los CCR medulares (130). Los CCR medulares muestran implicación de los genes importantes en las vías inducibles por la hipoxia y, en particular, muestran el aumento de expresión del factor inducible por hipoxia 1 $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ ). Análisis de la expresión genómica también muestran aumentos de Tipo II en todos los casos. También existe la desregulación total de la remodelación y reparación del ADN y una asociación ontológica entre los CCR medulares y el carcinoma urotelial (131, 132). Se han descrito translocaciones de genes BCR-ABL en algunos pacientes con CCR en relación con la translocación del cromosoma 9 y el 22 (133,134).

---

### 3.2.7 Carcinoma de células renales Tubuloquístico (CCR TQ)

Se han identificado un grupo de tumores de ductos colectores de "bajo grado" en los que las estructuras tubuloquísticas están revestidas por células tumorales con núcleos de bajo grado y cuyo pronóstico es significativamente mejor que los tumores de ductos colectores de alto grado (135). Más recientemente se ha propuesto para estos tumores la denominación de *Carcinoma tubuloquístico de riñón*, (136). Se han descrito alrededor de 70 casos; la edad media de los pacientes es de 60 años y con una clara predominancia en varones ( $\geq 7:1$ ). Habitualmente los pacientes se encuentran asintomáticos y el CCR TQ se presenta como un quiste complejo tipo 3 o 4 de la clasificación de Bosniak. Histológicamente está compuesto por estructuras tubulares y quísticas. Los espacios lumbinales están revestidos por células atípicas con abundante citoplasma eosinófilo. Los núcleos son amplios y tienen nucleolos prominentes (nucleolar grado 3). Las mitosis son discretas. El estroma generalmente es hipocelular y fibrótico (45, 136, 137). Los tumores extirpados son generalmente de bajo estadio (pT1 y pT2) y < 10% eran pT3 (136,137). Se ha publicado una recurrencia local y 4 casos de enfermedad metastásica (45).

**Alteraciones genéticas** (Ver tablas IX y X): Como los CCR papilares, a menudo presentan trisomía del cromosoma 17 pero no presentan la trisomía del 7. No presentan monosomías de los cromosomas 1, 6, 14, 15 y 22 pero si

pérdidas alélicas de los brazos 1q, 6p, 8p, 13q y 21q que se ven con frecuencia en los CCR de los ductos colectores (136).

### **3.2.8 Carcinoma de células renales asociado a translocaciones del MiT familiar**

La familia MiT incluye los factores de transcripción TFE3, TFEB, TFEC y MiTF. Dentro de este subtipo de CCR se incluyen los CCR asociados a translocación Xp11 y otros recientemente descritos como CCR con translocación t(6;11). Tienden a presentarse en niños y adultos jóvenes.

**CCR asociados a translocación Xp11:** Son un pequeño grupo de CCR que pueden mostrar una arquitectura papilar prominente, a menudo asociada a citología de células claras y calcificaciones psamomatosas. Sin embargo, también son frecuentes la arquitectura en nidos y células con citoplasma eosinófilo granular. Presentan una intensa tinción inmunohistoquímica del núcleo con anticuerpos frente a TEF3 (138).

**Alteraciones genéticas** (Ver tablas IX y X): Las translocaciones que se han publicado son t(X;1)(p11.2;q21), t(X;17)(p11.2;q25), t(X;1)(p11.2;p34), t(X;17)(p11.2;q23), der(17)t(X;17)(p11.2;q25), y inv(X)(p11;q12) que resultan en la producción de proteínas de fusión a partir del gen TFE3 y los genes PRCC, ASPL, PSF, y *NonO(p54nrb)* (138). Recientemente se han descrito otras t(X;3)(p11.2;q23) y t(X;10)(11.2;q23) en las que se desconoce el gen de fusión (45,138).



**CCR asociados a t(6;11):** Es otro grupo de CCR que se caracteriza por una translocación t(6;11)(p21;q12) que muestran una inmunopositividad intensa para el factor de transcripción TFEB (139,140).

### **3.2.9 Carcinoma de células renales asociado a nefropatía quística adquirida**

La mayoría de los casos, aunque no todos, afectan a pacientes en diálisis. Estos tumores están formados típicamente por células eosinófilas grandes con nucléolos prominentes, vacuolas inter e intracelulares (agujeros) que le confieren un aspecto vagamente cribiforme y cristales de oxalato intratumorales. Su arquitectura es variable, pudiendo ser papilar, acinar, tubular y con zonas laminares en proporciones variables. La tinción inmunohistoquímica para la  $\alpha$ -metilacil-CoA racemasa es fuertemente positiva. Algunos de estos tumores se comportan de manera agresiva y metastatizan (141).

**Alteraciones genéticas** (Ver tablas IX y X): Los estudios genéticos moleculares demuestran ganancias cromosómicas del 7 y el 17 así como ganancias de los cromosomas 1, 2, 3, 6, 7, 16 y del Y. Ganancias del cromosoma 3 son los hallazgos más consistentes (142).

---

### 3.2.10 Carcinoma de células renales clasificables

En algunas series, este tipo de carcinomas constituye aproximadamente el 4-6% de las series quirúrgicas (3, 41, 45, 52, 143). En esta categoría se incluyen todos los tumores de tipos celulares o arquitectura no reconocibles, y los constituidos por mezclas de los tipos reconocibles. Aunque muchos de estos tumores son de alto grado citomorfológico y de comportamiento clínico agresivo, por definición no constituyen una entidad pura y entre ellos se incluyen muchos otros tumores de bajo grado y menos agresivos. Entre los hallazgos de este tipo de CCR se encuentran: células sarcomatoides en los que son difíciles reconocer elementos epiteliales, producción de mucina, una mezcla de elementos epiteliales y estromales y tipos de células no reconocibles (3,41). Los cambios sarcomatoides se han encontrado en todos los subtipos histológicos de CCR.

Los carcinomas con cambios sarcomatoides, pueden representar una vía final común de dediferenciación de todos los tipos de CCR. Estos tumores suelen tener una alta actividad proliferativa y comportamiento agresivo con mayores tasas de invasión local y mayor probabilidad de metástasis a distancia (144).

**Alteraciones genéticas** (Ver tablas IX y X): Los mecanismos moleculares específicos responsables de la transformación sarcomatoide en los CCR es desconocido, aunque algunos estudios han relacionado mutaciones del gen supresor p53 con la morfología sarcomatoide (145).

Es de esperar que al ir aumentando el número de subtipos de tumores de CCR como es el caso de la nueva clasificación de la WHO de 2004 (3,45) y la experiencia sobre ellos, los anatomopatólogos logren reconocer tumores con rasgos clinicopatológicos comunes dentro de esta categoría. Eso permitirá reclasificarlos y pasarlos de la categoría de no clasificados a una categoría específica.

**Tabla IX.** Hallazgos clínico-patológicos y genéticos de los principales CCR en adultos.

Tipo CCR	Incidencia	Características tisulares	Patrón crecimiento	Pronóstico	Alteraciones genéticas
<b>CCRcc</b>	75%	Citoplasma claro, céls con citoplasma eosinófilo ocasional	Sólido, tubular, quístico y raramente papilar	Agresividad acorde a grado, estadio y cambios sarcomatoides	-3p, +5q22, -6q, -8p12, -9p21, -9q22, -10q, -14q
<b>CCR quístico multilocular</b>	Raro (4% de los CCRcc)	Citoplasma claro, pequeño núcleo oscuro	Quístico	No progresión, ni metástasis	-3p, Mutaciones gen VHL
<b>CCR papilar</b>	10%	Tipo 1 (basófilas) Tipo 2 (eosinófilas)	Tubulopapilar, sólido	Agresividad acorde a grado, estadio y cambios sarcomatoides	+3q, +7,+8, +12,+16,+17,+20,-Y
<b>CCR cromóforo</b>	5%	Citoplasma eosinófilo granular o pálido	Sólido	10% Mortalidad	-1, -2, -6, -10, -17, -21, hipodiploidia
<b>CCR ductos de Bellini</b>	1%	Citoplasma eosinófilo	Canales irregulares	Agresivos 2/3 de los pacientes fallecen en 2 años	-1q,-6p,-8p,-13q,-21q-3p
<b>CCR medular</b>	Raro	Citoplasma eosinófilo	Patrón reticular	Supervivencia media 15 semanas desde diagnóstico	Rara pérdida del cromosoma 22
<b>CCR Tubuloquístico</b>	Raro	Células eosinófilas	Patrón tubuloquístico	Desconocido	Variable, Trisomía del cromosoma 17
<b>CCR con translocación Xp11</b>	Raro	Células claras y eosinófilas	Túbulo-papilar	Presentación estadios avanzados	t(X;1), t(X;17) y otras
<b>CCR inclasificable</b>	4% a 6%	Variable, Sarcomatoide	Sólido	Alta Mortalidad	Desconocido
<b>CCR semejante a Carcinoma folicular de tiroides</b>	Raro	Células claras	Sólido y papilar	Desconocido	Ganancias 7q36, 8q24, 12, 16, 17p11, 17q24, 19q, 20q13 Pérdidas 1p36, 3, 9q21-33
<b>CCR asociado a Nefropatía quística adquirida</b>	Raro	Células claras o eosinófilas	Sólido	Desconocido	Variable, Ganancia cromosomas 7 y 17

**Tabla X.** Alteraciones genéticas en tumores renales epiteliales.

Tipo Tumoral	Cromosomas	Gen/es	Mecanismos y manifestaciones	Otras alteraciones genéticas
<b>CCR cc</b>	3p14.2 3p21 3p25	FHIT PRBM1, SETD2, BAP1, RASSF1A VHL	Delección, mutación, metilación	+5q22, -6q, -8p12, -9p21, -9q22, -10q, -14q
<b>CCR Multilocular quístico</b>	3p	VHL	Delección	
<b>CCR papilar</b>	7 17 7q31.1 7q31	- - FRA7G c-MET	Trisomía Trisomía Ganancia Ganancia	+3q, +8, -9p21, +12, -14q, +16, +17q21, +20
<b>CCR cromóforo</b>	1, 2, 6, 10, 13, 17, 21	Desconocido	Múltiples cromosomas perdidos	-5q22, -8p, -9p23, -18q22
<b>CCR ductos colectores</b>	1, 2, 6, 10, 13q,13,14,15,22	Desconocido	Delecciones	-3p,-13q,-19q32,-21q
<b>CCR asociado a translocación Xp11.2</b>	1p34 1q21 17q23 17q25 3q23 Xq12	PSF-TFE3 PRCC-TFE3 CLTC-TFE3 ASPL-TFE3 Desconocido NonO-TFE3	t(X;1)(p11.2;p34) t(X;1)(p11.2;q21) t(X;17)(p11.2;q23) (X;17)(p11.2;q25) t(X;3)(p11;q23) inv(X)(p11.2;q12)	
<b>Oncocitoma</b>	1,14 11q13	Desconocido	Pérdida  Translocación	-1p,-8p,-11q13,-14q,-19q, -21q, -X/Y t(5;11), t(9;11)

#### 4. Grado de diferenciación

En la actualidad el sistema de gradación propuesto por Fuhrman et al. (146) en 1982 es el más utilizado por su reproducibilidad y correlación clínica. Este sistema se basa en el grado de diferenciación nuclear (Tabla XI).

**Tabla XI.** Grados de diferenciación nuclear. (Fuhrman et al. 1982)<sup>146</sup>

<b>GRADO</b>	<b>TAMAÑO NUCLEAR</b>	<b>CONTORNO NUCLEAR</b>	<b>NUCLEÓLO</b>
<b>1</b>	10 micras (1 hematíe)	REGULAR	AUSENTE
<b>2</b>	15 micras (2 hematíes)	ALGO REGULAR	VISIBLE (400X)
<b>3</b>	20 micras (3 hematíes)	IRREGULAR	VISIBLE (100X)
<b>4</b>	25 micras (4 hematíes)	MUY IRREGULAR	FACIL VISIBLE

En la reunión de Minnesota, el Grupo de Trabajo Nº 2 liderado por Medeiros y cols. (147) (83) opinaban que hay problemas con el sistema de Fuhrman y con todos los sistemas de gradación. El más importante es el reconocimiento del nucléolo y la evaluación de su tamaño sobre todo en tejidos no fijados en formol o pobremente fijados. En caso de que en un carcinoma haya mezcla de grados, siempre se designa con el peor grado que esté presente. Se debe especificar el tamaño del área con peor grado de diferenciación. También aconsejaron agrupar los grados 1 y 2 nuclear en un grado (147).

Algunos autores tienden a agrupar los grados en bajo grado (grado 1 y 2) y alto grado (grados 3 y 4) (148).

En la última Conferencia de Consenso de la International Society of Urological Pathology (ISUP) en Vancouver 2012 proponen (149):

- ❖ Un nuevo sistema de clasificación (el sistema de clasificación ISUP). En este sistema; grado ISUP 1 nucléolos poco visibles o ausentes a 400 aumentos; grado ISUP 2, nucléolos deben ser claramente visibles a 400 aumentos, pero poco visibles o no visibles a 100 aumentos; y para los tumores de grado 3 ISUP, nucléolos deben ser claramente visibles a 100 aumentos. Los tumores Grado ISUP 4 son tumores con diferenciación rabdoide o sarcomatoide o los que contienen células gigantes tumorales o que muestran un pleomorfismo nuclear muy importante con la formación de grumos de cromatina.
- ❖ Este sistema de grados se aplicaría a los CCR cc y a los CCR papilares. No se debería aplicar a CCR cromófobos (150, 151). Se propuso añadir el grado de necrosis como otro parámetro con significado pronóstico pendiente de mayor validación con más estudios de confirmación (152).
- ❖ La invasión microvascular puede que tenga igualmente significado pronóstico pero son necesarios más estudios para su validación (153, 154).

## **5. Sistema de estadiaje (TNM)**

El sistema de estadiaje más ampliamente utilizado en la actualidad es la clasificación TNM (155, 156, 157). Esta clasificación ha sido realizada por la International Union Against Cancer (UICC) y el American Joint Committee on Cancer (AJCC). Los sistemas de estadificación son criticables y están en continua revisión, el sistema TNM se ha modificado y mejorado en varias ocasiones. Se recomienda actualmente utilizar la clasificación TNM para uniformizar los estudios. Nosotros para el estadiaje de nuestros tumores hemos utilizado la sexta edición de la clasificación TNM de 2002 (156).

En la literatura se ha resaltado la importancia de la invasión o afectación tumoral del seno renal y de las venas del seno. Thompson et al. (158) en un estudio retrospectivo observaron que una proporción significativa de pacientes que fallecen por enfermedad aparentemente pT1, al revisarlos en realidad presentaban invasión de la grasa del seno renal. Bosnib et al. (159) encontraron que >90% de los CCR de células claras  $\geq 7$  cm invadían el seno renal. Por lo que se recomienda un examen macroscópico cuidadoso y un muestreo adecuado del límite del seno renal-tumor especialmente en los tumores de mayor tamaño (160).



**Tabla XII.** *Tabla por estadios de TNM 2002.*

<b>Agrupación por estadios TNM 2002</b>			
<b>Estadio I</b>	T1	N0	M0
<b>Estadio II</b>	T2	N0	M0
<b>Estadio III</b>	T1	N1	M0
	T2	N1	M0
	T3	N0, N1	M0
<b>Estadio IV</b>	T4	N0, N1	M0
	Cualquier T	N2	M0
	Cualquier T	Cualquier N	M1

+

		TNM 1997 <sup>15</sup>	TNM 2002 <sup>156</sup>	TNM 2010 <sup>157</sup>
<b>Extensión de la enfermedad</b>	T1	Limitado al riñón $\leq 7$ cm	Limitado al riñón $< 7$ cm	Limitado al riñón $< 7$ cm
	T1a	-	Limitado al riñón $\leq 4$ cm	Limitado al riñón $\leq 4$ cm
	T1b	-	Limitado al riñón $>4$ cm y $<7$ cm	Limitado al riñón $>4$ cm y $<7$ cm
	T2	Limitado al riñón $\geq 7$ cm	Limitado al riñón $> 7$ cm	T2a: Limitado al riñón $>7$ cm y $<10$ cm T2b: Limitado al riñón $>10$ cm
	T3a	Invasión de la glándula suprarrenal o de la grasa perirrenal dentro de la fascia de Gerota	Invasión de la glándula suprarrenal o de la grasa perirrenal dentro de la fascia de Gerota	Invasión de la grasa perirrenal dentro de la fascia de Gerota
	T3b	Extensión a la vena renal o a la V. Cava por debajo del diafragma	Extensión a la vena renal o sus ramas segmentarias(que contienen músculo) o V. Cava por debajo del diafragma	Extensión a la vena renal o sus ramas segmentarias(las que contienen músculo) o V. Cava por debajo del diafragma
	T3c	Extensión a la V. Cava por encima del diafragma	Extensión a la V. Cava por encima del diafragma o invasión de su pared	Extensión a la V. Cava por encima del diafragma o invasión de su pared
	T4	Extensión más allá de la fascia de Gerota	Extensión más allá de la fascia de Gerota	Extensión más allá de la fascia de Gerota incluida extensión por contigüidad de la glándula suprarrenal
<b>Afectación ganglionar</b>	Nx	No evaluados	No evaluados	No evaluados
	N0	No afectación ganglionar	No afectación ganglionar	No afectación ganglionar
	N1	Afectación de un ganglio regional	Afectación de un ganglio regional	Metástasis en ganglio/s regional/es
	N2	Afectación de más de un ganglio regional	Afectación de más de un ganglio regional	
<b>Metástasis</b>	Mx	No evaluado	No evaluado	No evaluado
	M0	Ausencia de metástasis	Ausencia de metástasis	Ausencia de metástasis
	M1	Metástasis a distancia	Metástasis a distancia	Metástasis a distancia

**Tabla XIII.** Revisiones de la Clasificación de la UICC TNM de los CCR.

## FACTORES PRONÓSTICOS

Los nomogramas son herramientas cuantitativas que proporcionan los porcentajes estimados de supervivencia o recidiva en función de variables clínicas y/o anatomopatológicas. Debemos proporcionar a los pacientes la información más precisa disponible sobre la evolución más probable de cada caso individual. Se han desarrollado distintos algoritmos y nomogramas pronósticos para el CCR localizado que han sido validados y posteriormente mejorados (161, 175) (Ver Tabla XIV).

Russo et al. (176) realizan una revisión sistemática y un meta-análisis de distintos modelos y nomogramas y concluyen que las capacidades de predicción de los modelos Karakiewicz, pre y postoperatorias son más altas que los modelos de Kattan o Cindolo en la predicción de las tasas libre de recurrencia y las tasas de supervivencia específica de cáncer.

Los nomogramas más precisos permitirán a los médicos asesorar mejor a los pacientes sobre su evolución clínica probable, ayudarán a planificar el seguimiento, e identificarán a los pacientes que con mayor probabilidad se vayan a beneficiar de tratamientos individualizados. Es probable que en el futuro los algoritmos para predecir la evolución de la enfermedad incorporen factores moleculares que puedan aportar aún más información.

**Tabla XIV.** Nomogramas y algoritmos pronósticos en los CCR.

Institución	Año	Extensión de la enfermedad	Tipo celular de tumor	Indicadores Pronósticos	Pronóstico	Presentación
				<b>Preoperatorio</b>		
Clínica Cleveland	2007	Localizado	Todos	Tamaño tumoral, edad, síntomas, sexo, historial de fumador	Patología	Nomograma
Multicéntrico	2007	Localizado	Todos	Tamaño tumoral, síntomas, estado general (ECOG), edad, sexo, comorbilidad adenopatías, necrosis.	Recurrencia	Nomograma
				<b>Postoperatorio</b>		
MSKCC	2001	Localizado	Todos	Estadío TNM, tamaño, histología, síntomas.	Recurrencia	Nomograma
MSKCC	2004	Metástasis	Todos	Anemia, calcemia, estado general del paciente.	Supervivencia	Algoritmo
MSKCC	2005	Localizado	Células claras	Estadío TNM, tamaño, grado nuclear, necrosis, invasión microvascular, síntomas.	Recurrencia	Nomograma
UCLA (UISS)	2002	Localizado, metástasis	Todos	Estadío TNM, grado nuclear, estado general del paciente, metástasis.	Supervivencia	Algoritmo, grupos decisión
UCLA (UISS)	2003	Metástasis	Todos	Afectación ganglionar, síndrome constitucional, localización de las metástasis, histología, niveles de TSH.	Supervivencia	Algoritmo
Clínica Mayo	2002	Localizado, metástasis	Células claras	Estadío TNM, tamaño, grado nuclear, necrosis histológica.	Supervivencia	Algoritmo
Clínica Mayo	2005	Metástasis	Células claras	Síntomas; localización y número de metástasis, resección completa de metástasis; nivel trombo VCI; grado nuclear; necrosis histológica.	Supervivencia	Algoritmo
Karakiewicz	2007	Localizado	Todos	TNM 2002, tamaño, grado Fuhrman, subtipo histológico, síntomas locales, edad y sexo	Supervivencia	Nomograma

---

## **SÍNDROMES DE CÁNCER DE CÉLULAS RENALES FAMILIAR (CCRF)**

Los CCR hereditarios o familiares (CCRF) representan entre el 3 y el 5% de todos los CCR y esta cifra probablemente esté subestimada. Se siguen describiendo nuevos síndromes asociados a los CCRF (177, 178) (Ver Tabla XV) y sigue aumentando el número de familias a los que se diagnostican estos síndromes. La causa más frecuente de CCR hereditario o familiar es la enfermedad de von Hippel-Lindau (179). La forma de presentación de la enfermedad hereditaria es más temprana y los tumores suelen ser más frecuentemente multifocales y bilaterales que los CCR esporádicos.

La investigación sobre los síndromes de CCRF ha evidenciado los enormes beneficios que se pueden obtener de la interacción entre la investigación genética y la medicina clínica. El conocimiento de las alteraciones genéticas y de las vías moleculares subyacentes a la tumorigénesis en los pacientes con CCRF, han ayudado a descubrir los mecanismos a través de los cuales estos procesos puedan ser bloqueados o revertidos. El descubrimiento de estas mismas mutaciones y/o inactivaciones y/o sobreexpresiones genéticas y vías implicadas en tumores no renales y en formas esporádicas de CCR han ayudado al nacimiento de la era de las terapias moleculares y los tratamientos alternativos para el CCR.

**Tabla XV. CCR Familiar o Hereditario** <sup>180-212</sup>.

Síndrome	Cr	Gen	Proteína	Tipo Celular	Otros Tumores	Alt. no Neoplásicas
Síndrome Birt-Hogg-Dube <sup>180-184</sup>	17p11	FLCN	Foliculina	Múltiples CCR cromóforo, oncocitomas, tumores híbridos cromóforo/oncocítico, CCR papilar?	Fibrofoliculoma facial	Quistes pulmonares, neumotórax espontáneo
Enfermedad con mutación de BAP1 <sup>185</sup>	3p21	BAP1	BRCA	CCR células claras	Melanoma, Melanoma uveal y Mesotelioma	Tumores epitelioides atípicos de Spitz
Síndrome von Hippel-Lindau <sup>186-193</sup>	3p25	VHL	pVHL	CCR células claras múltiples y bilaterales, quistes renales	Hemangioblastomas cerebelosos, médula, retina. Feocromocitoma. Tumores del saco endolinfático, Tumores Neuroendocrinos del páncreas. Tumores del oído interno.	-
CCRcc familiar asociado a translocaciones del Cromosoma 3 <sup>6,194-199</sup>	3p 3q			CCR células claras múltiples y bilaterales	-	-
CCR papilar familiar <sup>92,93,200-201</sup>	7q31	c-MET	HGF-R	CCR papilares múltiples y bilaterales Tipo 1	-	-
Leiomiomatosis Hereditaria asociada a CCR <sup>202</sup>	1q42	FH	Fumarato Hidratasa	CCR papilar Tipo 2	Leiomiomas cutáneos, Leiomiomas/Leiomiomas uterinos	-
Esclerosis Tuberosa <sup>203-209</sup>	9q34 16p13	TSC1 TSC2	Hamartina Tuberina	Angiomiolipomas múltiples y bilaterales, Angiomiolipomas epitelioides, raramente CCR cc	Astrocitoma de células gigantes subependimal, Angiomiolipomas	Angiofibroma facial, máculas hipomelanóticas Nevus del tejido conectivo Fibromas ungual y . Quistes pancreáticos y renales
Síndrome PTEN hamartoma (Enfermedad de Cowden) <sup>210</sup>	10q23	PTEN	PTEN	CCRcc	Cáncer de mama, Tumores de Tiroides, Tumores de endometrio	Macrocefalia, Pápulas mucocutáneas, Tricolemoma, hamartomas
CCR asociado a Succinato Deshidrogenasa <sup>211</sup>	1p36	SDHB SDHC SDHD	Succinato Deshidrogenasa subunidades B,C y D	CCRcc, CCR cromóforos, Oncocitomas	Feocromocitoma, Paraganglioma, Carcinoma papilar de tiroides	-
Hiperparatiroidismo-Tumor mandibular <sup>212</sup>	1q25	HRPT2	-	CCR papilares, Tumores mixtos epiteliales-estroma. Tumor Wilms	Tumores de Paratiroides, Tumores Fibromas osificantes mandibulares	-

---

## **BIOLOGÍA MOLECULAR DE LOS CARCINOMAS DE CÉLULAS RENALES**

Los avances de la genética y biología molecular han dado lugar al conocimiento sobre las alteraciones genéticas subyacentes a varios de los tipos de CCR y sobre las vías moleculares implicadas en su oncogénesis. Las diferencias observadas entre unos tumores y otros reflejan la mayor complejidad del análisis tumoral en función del tipo celular, histología, aberraciones genéticas, contenido de glucógeno, inmunohistoquímica de las proteínas, etc. Por ejemplo, el descubrimiento del gen supresor tumoral de la enfermedad de von Hippel-Lindau (VHL) y de la vía inducida por la hipoxia en el CCR de células claras ha sido fundamental para la aplicación de nuevas estrategias diagnósticas, de selección de pacientes y de tratamientos dirigidos. Los últimos 10 años han sido testigos de una enorme evolución en nuestro entendimiento de la biología de los CCR, que han dado lugar al desarrollo de nuevos tratamientos médicos y a un cambio en el manejo clínico de los CCR.

Las vías moleculares descritas en la biología de los CCR son (213):

- ❖ Vía inducida por la hipoxia o pseudo-hipoxia.
  - Alteración a nivel gen VHL (214).
  - Alteración a nivel ciclo de Krebs (fumarato hidratasa y succinato deshidrogenasa) (215, 216).

- ❖ Vía mTOR (vía de la diana de Rapamicina en mamíferos) (217, 218).
- ❖ Vía RAS/RAF/MEK/Cinasa regulada por señal extracelular (219).
  - Mutación c-MET.
- ❖ Genes remodeladores de cromatina y modificadores de histona (actualmente en investigación) (220).

## **GENÉTICA DE LOS CARCINOMAS DE CÉLULAS RENALES**

El concepto de que las células pueden convertirse en células malignas debido a la eliminación de regiones cromosómicas, inhibiendo así la división celular, data de 1914 y fue formulado por Boveri (221). Las deleciones que ocurren en las células tumorales son consideradas como zonas de posible localización de genes tumorales supresores.

El desarrollo y progresión tumoral son el resultado de una serie de mutaciones o alteraciones cromosómicas. Las mutaciones activan proto-oncogenes e inactivan genes tumorales supresores jugando un papel en este proceso.

Los estudios epidemiológicos del retinoblastoma llevados a cabo por Knudson (222) en 1971 dieron como resultado el modelo tumoral supresor de los “dos golpes” (223, 224). Los casos hereditarios del retinoblastoma tienen una predisposición a desarrollar el tumor si existe una mutación en la línea



germinal de uno de los dos alelos del gen implicado y como consecuencia de una delección o la inactivación del otro alelo por algún suceso o evento somático dará lugar a la aparición del tumor. En los casos no hereditarios, ambos alelos necesitan ser inactivados por acontecimientos somáticos en la misma célula.

Una metilación aberrante del ADN; tanto una hipermetilación como una hipometilación global de zonas reguladoras en los genes (las islas CpG), puede dar lugar a cambios epigenéticos y como resultado: existir una inestabilidad cromosómica, activación de secuencias endógenas parasitarias, aneuploidía, mutaciones y contribuir a un silencio transcripcional de los genes tumorales supresores, etc. Esta hipermetilación es una forma alternativa de inactivación de genes y afectaría a todos los mecanismos y vías celulares tales como la reparación del ADN (hMLH1, BRCA1, MGMT, MSH2, etc.), el ciclo celular p16(INK4a), p14(ARF), p15(INK4b), etc. y la apoptosis (DAPK, APAF-1, etc.) (225).

Este hallazgo de Esteller et al. (225, 226), supone un nuevo modelo tumoral en el que los cánceres familiares podrían heredar un alelo mutado y el otro alelo como consecuencia de una metilación aberrante, ser inactivados dando lugar al origen y desarrollo de tumores.

Por otro lado, la posibilidad de que una región común, que sufre delecciones y que esa región contenga un gen supresor tumoral, se refuerza al transferir a las células tumorales dicho fragmento cromosómico y observar que

se suprime la tumorigenicidad. Tal situación existe para una región localizada en 3p21.3 y también para una o más regiones en 3p12-p14 (227).

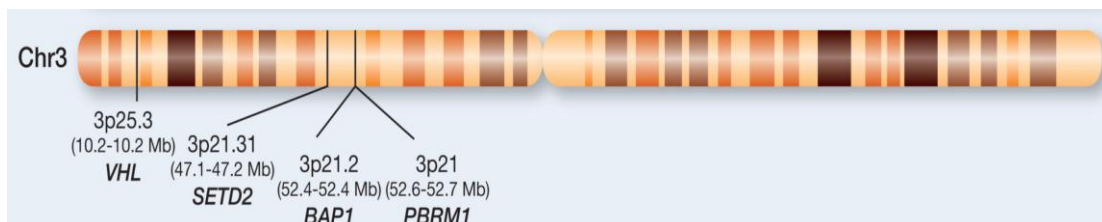
Otra forma para la localización de genes supresores es estudiar las regiones cromosómicas donde se encuentran deleciones homocigóticas en determinados tumores. La región 3p21.3 se relaciona con la existencia de un gen supresor en el cáncer de pulmón. En esta región Wei et al. (228) han descrito tres deleciones homocigóticas en el cáncer de pulmón de células pequeñas y Sekido et al. (229) una deleción homocigótica en una línea celular del cáncer de mama. El mismo gen o uno diferente en la misma región puede también jugar un papel en el desarrollo de otros cánceres, incluyendo el cáncer de células renales. Latif et al. (230) definieron una deleción homocigótica de la línea U2020 en un cáncer de pulmón de células pequeñas, localizada en 3p12.

Genes específicos en el 3p parecen actuar como genes supresores basado en:

- Localización en una región común de deleciones.
- Una reducida expresión o presencia de transcripciones aberrantes.
- Capacidad para suprimir la tumorigenicidad mediante transfección en células tumorales.
- La supuesta función de los productos del gen o la combinación de varios de estos criterios.

Una serie de genes han sido evaluados y se ha valorado el papel de dichos genes como genes tumorales supresores de acuerdo a estos criterios. Genes localizados en el Cr 3 son: hMLH1, TGF $\beta$ R2, los receptores protéicos THRB y RARB que codifican el receptor  $\beta$  de la hormona tiroidea y el receptor  $\beta$  del ácido retinóico respectivamente, APEH que codifica una acilpéptido hidrolasa, ACY1 que codifica la enzima aminoácido acilasa, UBE1L, RPTP $\gamma$ , FHIT, RASSF1A, NRC-1, VHL (gen von Hippel-Lindau), Polibromo 1 (PBRM1), SETD2 y BAP1, etc. (227, 231, 232).

Los 4 genes tumorales supresores más frecuentemente mutados en los CCRcc son; VHL, PBRM1, SETD2 y BAP1 (233).



**Figura 8:** Genes relacionados con CCRcc.

El primer análisis citogenético de un carcinoma de células renales fue realizado por Hagemeyer (5) en la línea celular NC65 derivada de un CCR. Cohen et al. (6) en 1979, describieron una familia con CCRs multifocales y bilaterales y portadora de una translocación cromosómica t(3:8). Wang y Perkins (234) localizaron el sitio de ruptura en el locus 3p14.2. Li et al. (235) objetivaron que algunos de estos tumores familiares retenían el derivative 3 pero habían perdido el cromosoma derivative 8 portador del fragmento

cromosómico translocado 3p14.2 hasta la región telomérica 3p, esto hacía pensar que el supuesto gen supresor tumoral residía en la zona telomérica de la ruptura 3p14.2.

En los años 90 comenzaron a realizarse más estudios citogenéticos basados fundamentalmente en la pérdida de heterocigosidad (LOH, siglas en inglés) y en el análisis de polimorfismos en la longitud de los fragmentos de restricción (RFLP, siglas en inglés) y se objetivó que las alteraciones o aberraciones cromosómicas en el brazo corto del cromosoma 3 son las más frecuentes en el cáncer renal de células claras (236).

## **1. Carcinoma de células renales y pérdida de heterocigosidad en el brazo corto del cromosoma 3 (3p)**

En el brazo corto del cromosoma 3p existen varios genes supresores tumorales y existe la posibilidad de que aparezcan nuevos genes que jueguen un papel importante en la oncogénesis de varios tipos de cánceres, entre ellos el CCR.

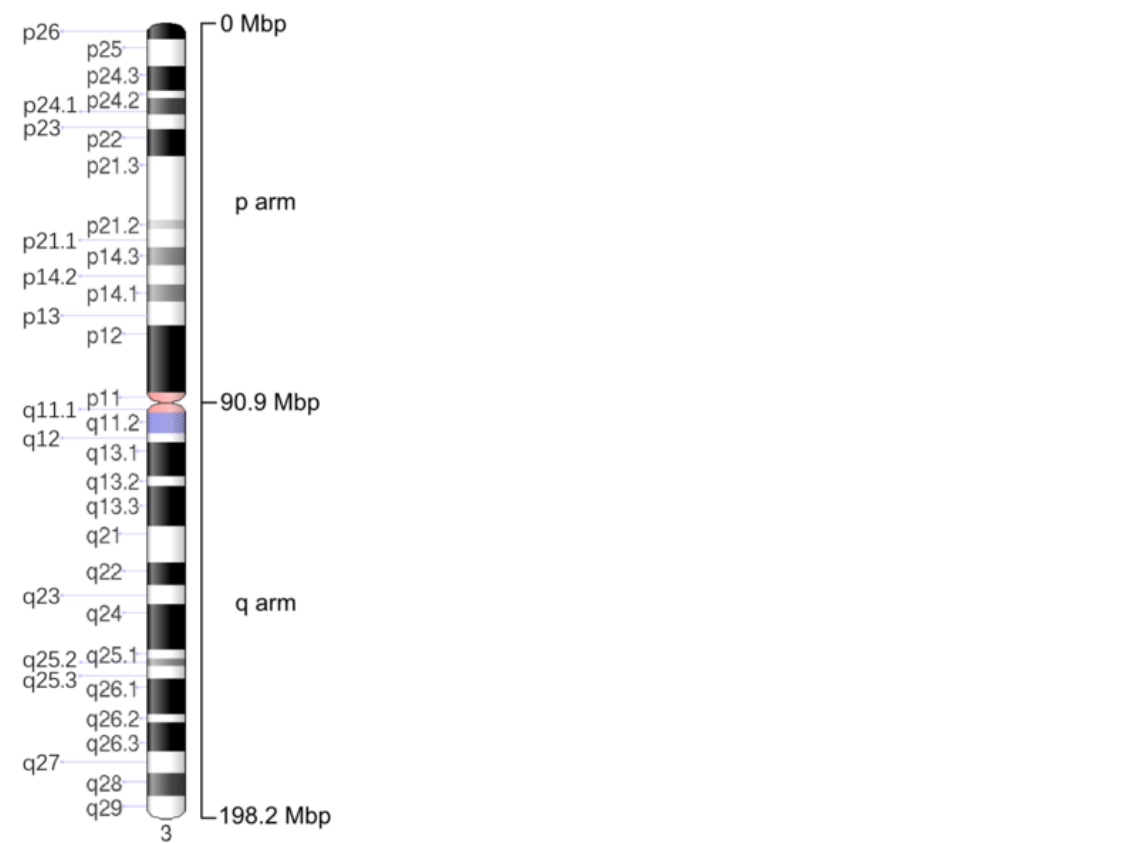
Existe una pérdida de la heterocigosidad en el 3p en distintos tumores (227): carcinoma de pulmón (228, 230, 237), carcinoma de mama (229), cáncer colorectal (238), carcinomas de cabeza y cuello (239), carcinoma de cérvix (240) y cáncer de testículo (241).

En el CCR de células claras se ha descrito una alta frecuencia de pérdida de heterocigosidad del 3p 60-98% (80, 242, 243), para establecer adecuadamente la verdadera pérdida de heterocigosidad utilizando marcadores de microsatélites, es fundamental el análisis del ADN tumoral sin contaminación del ADN de células sanas. Además, la pérdida de heterocigosidad es directamente proporcional a los marcadores satélites utilizados.

Los ensayos funcionales, tanto los estudios de genética molecular como citogenéticos sugieren que existen 3 regiones donde residen genes supresores tumorales: 3p12-14.2, 3p21.3, 3p25 (244-246).

Se han descrito una frecuencia entre un 43-57% de mutaciones somáticas del gen VHL en líneas celulares y en tumores primarios esporádicos (247, 248), en un 11-19% adicional existe una hipermetilación aberrante de las zonas promotoras, esto conlleva la inactivación o silencio transcripcional del gen VHL (249, 250, 251, 252). El hecho de que el gen VHL no esté mutado o inactivado en todas las líneas celulares o tumores primarios del CCR junto con los ensayos genéticos funcionales introduciendo fragmentos de ADN del brazo corto del cromosoma 3 (3p) excluyendo el gen VHL mediante transfección celular en ratones, siendo el resultado la supresión de la actividad tumoral (102, 253), ha dado lugar a la hipótesis para algunos investigadores de que existe un mecanismo independiente del gen VHL en la tumorigénesis del CCR, localizado en el brazo corto del cromosoma 3 (103, 251, 253).

Las publicaciones hasta la fecha han intentado ir acotando las regiones cromosómicas anteriormente citadas, determinando locus donde residan los posibles genes tumorales supresores, así como genes candidatos en la oncogénesis del CCR.



**Figura 9:** Mapa del cromosoma 3

# **JUSTIFICACIÓN, HIPÓTESIS Y OBJETIVOS**



## JUSTIFICACIÓN E HIPÓTESIS

Los Carcinomas de células renales (CCR) suponen el 3,8% de todos los nuevos cánceres con una media de edad al diagnóstico de 64 años. Las tasas de incidencia siguen aumentando, y en Estados Unidos han sufrido un aumento de 1,6% por año (2002-2011) (8). Los tumores más frecuentes de las neoplasias renales son los carcinomas de células renales y en concreto los CCR de células claras (CCRcc) constituyen el 65-80% de los CCR. Aproximadamente un 60% de los CCR se diagnostican incidentalmente. La tasa de supervivencia de los CCRcc a los 5 años, se estima entre un 50-60% (254). Los primeros trabajos sobre la pérdida de heterocigosidad (LOH: loss of heterozygosity) evidenciaron la existencia de pérdidas o mutaciones de diversos loci en los CCR (242, 255, 256). La mayoría de los autores coinciden en señalar la existencia de deleciones que afectan a distintas bandas cromosómicas, desde 3p11.2 hasta 3p26, sugiriendo que cada región delecionada podría contener un loci de un gen supresor del CCR (257). Las tres regiones de LOH más descritas en la posible génesis y desarrollo de los CCR son 3p12-14, 3p21 y 3p25 (244-246).

Los avances en el conocimiento de los CCR en estos últimos años han dado lugar a un cambio apasionante en el concepto de estos tumores. Hoy en día, los CCR son una familia de cánceres que se originarían por distintas anomalías genéticas y epigenéticas con características propias, pero que

procederían en su inmensa mayoría del epitelio tubular renal; y en ese afán de caracterizar mejor genéticamente estos tumores, realizamos este trabajo.

## **OBJETIVOS**

1. Iniciar un protocolo de estudio de alteraciones citogenéticas en los carcinomas de células renales (CCR) que permita caracterizar las alteraciones genéticas de estos tumores.
2. Realizar un análisis de pérdida de heterocigosidad en los tumores renales a nivel del brazo corto del cromosoma 3, mediante marcadores microsatélites localizados 3p14.1-14.3, 3p21.2-21.3 y 3p25.
3. Relacionar las deleciones del cromosoma 3 estudiadas con las características clínicas y anatomopatológicas de los tumores renales.
4. Determinar posibles factores pronósticos en cuanto a la supervivencia global, la supervivencia cáncer específica, la supervivencia libre de recidiva local, la supervivencia libre de metástasis y la supervivencia libre de enfermedad utilizando los parámetros clínicos, anatomopatológicos y la pérdida de heterocigosidad estudiada en el cromosoma 3 en las muestras de tumores renales.

# PACIENTES Y MÉTODOS

## **PACIENTES**

### **1. PERIODO DE ESTUDIO**

Este trabajo ha sido realizado durante el periodo de tiempo comprendido entre Noviembre de 1993 y Marzo 2010, en el seno de un equipo multidisciplinario centrado en la atención de pacientes con carcinoma de células renales, y con la colaboración de los Servicios de Urología, Análisis Clínicos, Anatomía Patológica y la Unidad de apoyo a la Investigación del Hospital Clínico San Carlos de Madrid. Los pacientes que forman parte de este estudio fueron intervenidos quirúrgicamente durante los años 1993 a 1998. El periodo de seguimiento se realizó hasta Marzo de 2010.

### **2. POBLACIÓN DE ESTUDIO**

Hemos realizado un estudio de cohortes retrospectivo. La población objeto de nuestro estudio se compone de un total de 41 pacientes, diagnosticados y tratados en el Servicio de Urología del Hospital Clínico San Carlos de Madrid. Los pacientes fueron intervenidos quirúrgicamente por sospecha de CCR y el diagnóstico se confirmó por el análisis histopatológico de la pieza de resección.

---

### 3. VARIABLES DEL ESTUDIO

#### **Independientes:**

Demográficas: Sexo, edad.

Clínicas: Antecedentes familiares neoplásicos (1<sup>er</sup> y 2<sup>o</sup> orden). Antecedentes neoplásicos del paciente. Diagnóstico (sintomático e incidental). Hábito tabáquico. HTA. Obesidad.

Histopatológicas: Características del tumor en la ecografía (sólida, quística, mixta), localización tumoral (polo superior, mesoriñón, polo inferior, polo superior-mesoriñón, mesoriñón-polo inferior o 2/3 del riñón), multifocalidad (si o no), tamaño tumoral, tipo histológico, categoría pT2002 (pT1a, pT1b, pT2, pT3a, pT3b y pT4), estadio tumoral 2002 (I, II, III, IV), grado de diferenciación nuclear (1, 2, 3 y 4), grado nuclear agrupado (1-2 y 3-4).

Determinaciones Laboratorio: Pérdida de heterocigosidad LOH en 3p14, 3p21, 3p25 (si, no, inestabilidad microsatélite, no informativo). alguna pérdida LOH en 3p (si o no).

**Dependientes:**

La supervivencia global (SG) fue calculada como el tiempo transcurrido entre la fecha de la cirugía y la del fallecimiento y hasta la última revisión en los que no fallecen.

La supervivencia cáncer específica (SCE) fue calculada como el tiempo transcurrido entre la fecha de la cirugía y la del fallecimiento por su CCR y hasta la última revisión en los que no fallecen.

La supervivencia libre de recidiva local (SLR) fue calculado como el tiempo transcurrido entre la fecha de la cirugía y el de aparición de recidiva local y hasta la última revisión en los que no presentaron recidiva local.

La supervivencia libre de metástasis (SLM) fue calculado como el tiempo transcurrido entre la fecha de la cirugía y el de aparición de metástasis y hasta la última revisión en los que no presentaron metástasis.

La supervivencia libre de enfermedad (SLE) fue calculado como el tiempo transcurrido entre la fecha de la cirugía y el de aparición de metástasis o recidiva local y hasta la última revisión en los que no presentaron metástasis, ni recidiva local.

## MÉTODOS

### 1. METODOLOGÍA CLÍNICA

El estudio de este grupo de pacientes se realizó en tres etapas:

- **Etapla preoperatoria**

Se realizó sistemáticamente en todos los pacientes una detallada historia clínica, determinaciones analíticas básicas, estudios radiológicos, estudios ecográficos y tomografía axial computerizada (TAC), en casos seleccionados se llevó a cabo punción-aspiración con aguja fina (PAAF) de la masa tumoral.

- **Etapla operatoria**

En el acto quirúrgico se procedió a la exéresis del tumor e inmediatamente se realizó el tallaje de la pieza quirúrgica. A continuación se obtuvo una muestra del tumor de la zona macroscópicamente afectada, intentando no incluir áreas necróticas o hemorrágicas y otra muestra de tejido renal sano lo más alejada posible de la periferia del tumor. El volumen aproximado de cada muestra fue de 1 cm<sup>3</sup>. Las muestras tisulares fueron lavadas con abundante suero fisiológico, con el objeto de eliminar los restos de sangre y grasa.

Cada una de las muestras se dividió en dos fragmentos, uno se utilizó para la determinación de las distintas alteraciones genéticas en el laboratorio de Biología Molecular y otro destinado al estudio histopatológico. La muestra de tejido renal sano fue destinada para las determinaciones del laboratorio como muestra control.

El primer fragmento de la muestra tumoral y de la muestra de tejido renal sano se introdujeron en tubos de plástico previamente identificados, y a continuación, los tubos se congelaron en el mismo quirófano, introduciéndolos en un termo que contenía nitrógeno líquido ( $N_2$  líquido) o nieve carbónica. En ningún caso el tiempo transcurrido entre la extracción de la pieza quirúrgica y la congelación de las muestras sobrepasó los 5 minutos.

Una vez transportadas las muestras, se procedió al registro de dichas muestras en el laboratorio y a su almacenamiento en un congelador de  $-80^{\circ}C$ , hasta el momento de su procesamiento definitivo.

- **Etapas postoperatorias**

Con objeto de analizar la posible influencia pronóstica que pudiera tener el análisis de las diferentes alteraciones genéticas realizadas en las muestras tumorales, se realizó un estudio y seguimiento clínico de los pacientes consistente en: visita médica, analíticas, ecografía, radiografías y/o TAC cada tres meses el primer año, cada 6 meses en los siguientes dos años y posteriormente se realizó una visita anual.



---

## **2. METODOLOGÍA ANALÍTICA**

### **2.1. ESTUDIO HISTOPATOLÓGICO**

El estudio anatomopatológico lo realizó un patólogo y especialmente para este estudio. Se demostró en cada caso la naturaleza de la muestra: tejido tumoral y tejido renal sano no afecto por el tumor. El estudio comenzó con el estudio macroscópico de la pieza quirúrgica y la selección de las muestras para microscopía óptica, incluyendo al menos dos cortes de la masa tumoral.

Las muestras destinadas al estudio histopatológico fueron fijadas inmediatamente en formol al 10% durante 12 horas, incluidas en parafina y teñidas con la técnica convencional de hematoxilina-eosina.

En cada muestra tumoral se determinó el tipo histológico según la clasificación propuesta por la WHO en 2004 (3). En relación al grado de diferenciación de los carcinomas de células renales utilizamos la clasificación de Fuhrman (146). Describimos otra variable para el estudio agrupando los grados 1 y 2 de Fuhrman en un grupo denominado bajo grado y otro grupo para los grados 3 y 4 que denominamos de alto grado, según recomiendan algunos autores (147, 148).

De los 41 tumores, excluimos de estas clasificaciones a los 2 oncocitomas de la serie por tratarse de neoplasias benignas.

---

## 2.2. PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS

En el procesamiento de las muestras tisulares, tumorales y de tejido renal sano, se siguieron los siguientes pasos: extracción del ADN y cuantificación de éste y determinación de las alteraciones genéticas del brazo corto del cromosoma 3 mediante el estudio de la pérdida de heterocigosidad de los locus 3p14.1-14.3, 3p21.2-21.3 y 3p25.

- 1.- Extracción de ADN.
- 2.- Amplificación por PCR de la pérdida de heterocigosidad.
- 3.- Electroforesis y revelado.

### 2.2.1.Extracción y Cuantificación del ADN

#### A. Extracción del ADN

La extracción del ADN genómico se realizó tanto en las muestras de tejido tumoral como en las de tejido no tumoral. Detallaremos los equipos y reactivos necesarios así como el procedimiento llevado a cabo.

##### ➤ Equipos y Reactivos

- Baño de agua (Unitronic 320 OR).
- Mortero.
- Pipetas y puntas.

- 
- Eppendorfs.
  - Agua destilada.
  - Solución amortiguadora (TRIS 50 mM de Merck, EDTA 1mM de Sigma, NaCl de Merck).
  - Dodecil Sulfato Sódico (SDS de Sigma).
  - Proteinasa K (Proteinase K de Boehringer).
  - Fenol-cloroformo (Amresco®).
  - Etanol absoluto (Scharlan).

➤ Procedimiento

El tejido fue triturado en un mortero con nitrógeno líquido para lisar las células y liberar el ADN. Posteriormente, las proteínas fueron digeridas con una solución que contenía 400 µl de solución amortiguadora (pH 7,5), 20 µl de SDS al 10% y 10 µl de proteinasa K, en un baño a 37° C con agitación durante 12 horas. La extracción del ADN se realizó mediante un método convencional con 400 µl de fenol-cloroformo a igual volúmenes, hasta eliminar las impurezas de la capa acuosa. Se añadió 40 µl de acetato sódico 3M. El ADN se precipitó con 800 µl de etanol absoluto en frío y se centrifugó a 15.000 r.p.m. durante 5 minutos, el sobrenadante se desechó y posteriormente se purificó con 400 µl de etanol al 70%. El precipitado se rehidrató en 400 µl de agua destilada y se dejó 12 horas a temperatura ambiente hasta su cuantificación y almacenamiento.

---

## B. Cuantificación del ADN

Cuantificamos la cantidad de ADN genómico extraído y se diluyó hasta conseguir la concentración requerida para realizar las determinaciones de las alteraciones genéticas.

### ➤ Equipos y Reactivos

- Espectrofotómetro (Pharmacia Gene Quant).
- Pipetas y puntas.
- Eppendorfs.
- Agua destilada.

### ➤ Procedimiento

La concentración de ADN se determinó por espectrofotometría. Las bases púricas y pirimidínicas absorben en UV a 260 nm ( $A_{260}$ ). Una unidad de absorbancia a 260 nm corresponde a una solución de doble hebra de ADN de 50  $\mu\text{g/mL}$ . Para evitar una eventual contaminación protéica, se efectuó una segunda medida de absorbancia a 280 nm ( $A_{280}$ ), ya que las proteínas no solo absorben a 280 nm, sino también a 260. Consideramos un ADN puro cuando la relación entre  $A_{260}/A_{280}$  estaba comprendida entre 1,8 y 2.

Para realizar la lectura se tomó una dilución del ADN al 1/100. La cantidad de ADN se calculó a partir de la siguiente fórmula:

$$\text{Concentración de ADN} = D_{260} \times 50 \mu\text{g/mL} \times 100 (\text{dilución}) \times 0.4 (\text{volumen final})$$

A continuación se realizaron diluciones del ADN con agua destilada hasta conseguir una concentración entre 50-100  $\mu\text{g/mL}$  (concentración de ADN con la que trabajaremos en las técnicas siguientes), se identificaron los tubos de almacenamiento y se congelaron a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta su posterior procesamiento.

## **2.2.2.Determinación de las alteraciones genéticas**

### **A. Estudio de la pérdida de heterocigosidad de los locus 3p14.1-14.3 (D3S1228), 3p21.2-21.3 (D3S1029) y 3p25 (D3S1038)**

#### **A.1 Amplificación mediante la reacción en cadena de polimerasa (PCR)**

Realizamos una amplificación de los microsatélites D3S1228, D3S1029 y D3S1038 de acuerdo con la relación existente en el brazo corto del cromosoma 3 descrita por Jones et al. (258).

---

➤ Equipos y Reactivos

- Termociclador automático (GeneAmp PCR System 9600 de Perkin Elmer).
- Puntas y pipetas.
- Eppendorfs.
- Agua destilada.
- Tampón estándar para PCR (10x PCR Buffer II de Roche). Proporciona el pH óptimo para la actividad enzimática (8,3-8,8).
- Cloruro de Magnesio ( $MgCl_2$  de Roche). Interviene en la hibridación de los cebadores al ADN, actividad y fidelidad de la Taq y en la especificidad del producto de amplificación.
- Primers, iniciadores o cebadores de los marcadores de los microsatélites D3S1228, D3S1029 y D3S1038 (Promega) (Tabla XVI). Son cortas cadenas de nucleótidos complementarios a las secuencias situadas en los extremos del fragmento de ADN que se desea amplificar. Inician el proceso de replicación.
- Nucleótidos (GeneAmp<sup>®</sup> dNTPs de Perkin Elmer). Son trifosfatos de desoxirribonucleósidos necesarios para la síntesis del ADN.
- Taq ADN polimerasa (Amplitaq<sup>®</sup> DNA Polimerase de Roche). Enzima termoestable aislada de *Thermus Aquaticus* que interviene en la síntesis de ADN.

---

➤ Procedimiento

La amplificación de la secuencia se realizó con el ADN de las muestras tumorales y no tumorales en un volumen final de 50  $\mu$ l que contenía: 50 ng de ADN genómico, 8  $\mu$ l de tampón estándar para, 1.25 mM de  $MgCl_2$ , 20 pmol de cada primer (Promega) (Tabla XVI), 200 $\mu$ M de dNTPs (dATP, dGTP, dCTP y dTTP) y 0.5 U de Taq DNA polimerasa.

La amplificación se realizó en un termociclador automático con programa de temperaturas de Perkin Elmer y comenzó con un ciclo inicial de 5 minutos a 95°C para desnaturalizar el ADN (separación de las dos hebras que forman la cadena de ADN mediante calor). Posteriormente se realizaron 30 ciclos en los que cada uno comprendía: 30 segundos a 96°C, 30 segundos a la temperatura de hibridación (hibridación de los cebadores con cada hebra de ADN) de cada región, 60°C para las regiones 3p 14.1-14.3 y 3p 21.2-21.3 y 50°C para la región 3p 25 (Tabla XVI) y 30 segundos a 72°C para la síntesis (la polimerasa extiende los cebadores con los nucleótidos presentes en la reacción). Se realizó un último ciclo a 72°C durante 10 minutos para la elongación final.

En cada amplificación se incorporó un control negativo que contenía todos los reactivos salvo el ADN que se sustituyó por agua destilada. Este control nos servía para garantizarnos que los reactivos no estaban contaminados, que carecían de ADN para observar posibles contaminaciones (258).

**Tabla XVI.** Secuencias de los primers utilizados en la amplificación del los locus 3p 14.1-14.3, 3p 21.2-21.3 y 3p 25 mediante PCR.

Cromosoma	Símbolo del locus	Banda	Primers: sense 5'→3' Primer antisense 5'→3'	T <sup>a</sup>	Tamaño bp
3p	D3S1228	14.1-14.3	TCCTTAACTCTTTCTCTGTGAGTTG TCTAGGAAAGGGATTAGGAAGGA	60	84
3p	D3S1029	21.2-21.3	ATACTCTGGACCCAGATTGATTAC TAATTCCCAAATGGTTTAGGGGAG	60	168
3p	D3S1038	25	TCCAGTAAGAGGCTTCCTAG AAAGGGGTTTCAGGAAACCTG	50	115

## A.2 Electroforesis.

Los amplificados procedentes de la PCR fueron separados mediante la técnica de electroforesis.

### ➤ Equipos y Reactivos

- Cámara de Electroforesis (Xcell II Mini Cell).
- Pipetas.
- Puntas de pipetas (Gelsaver Tip 1- 200 µL).
- Eppendorfs de 200 µL.
- Agua destilada.
- TBE (Tris de Merck, EDTA de Sigma, ácido bórico de Merck).



- 
- Acrilamida (Acryl/Bis 19:1 solution de Amresco®).
  - Glicerol (Merck).
  - Persulfato Amónico (Sigma).
  - Temed (N,N,N',N'-Tetrametil-Etilendiamida de Eastman).
  - Marcador o leader (Phix 174 DNA Hae III Markers de Promega).
  - Azul de bromofenol (Blue/Orange 6x de Promega).

➤ Procedimiento

Los fragmentos de ADN procedentes de la PCR se separaron en geles de poliacrilamida al 8% (que permiten separar fragmentos de ADN inferiores a 500 bp) de 1mm de espesor. Para preparar los geles se mezcló bien 2 mL de acrilamida al 40%, 7,5 mL de TBE al 0,5%, 0,5 mL de glicerol, 70  $\mu$ L de persulfato amónico y 5  $\mu$ L de Temed. Los monómeros de acrilamida se polimerizan en cadenas largas como consecuencia de una reacción que se inicia por la presencia de radicales libres aportados por el persulfato amónico y estabilizados por el Temed.

Las muestras de ADN amplificado se prepararon mezclando 10  $\mu$ L de la muestra y 2  $\mu$ L de Azul de bromofenol. El blanco se preparó en las mismas condiciones. El marcador se preparó mezclando 10  $\mu$ L de agua destilada, 2  $\mu$ L de Azul de bromofenol y 2  $\mu$ L de marcador.

---

A continuación se preparó la cámara de electroforesis, se colocó el gel solidificado y se llenó la cámara con solución amortiguadora (TBE al 0,5%). Cada gel contenía 10 pocillos. Se cargaron los geles con 5  $\mu$ L de cada muestra amplificada (tumoral y no tumoral), el marcador (para comparar el tamaño de los fragmentos de la amplificación) y el blanco (para observar posibles contaminaciones). El Azul de bromofenol nos indicaba el final de la electroforesis que duraba aproximadamente 90 minutos.

### **A.3 Revelado**

El revelado de los geles se realizó, mediante un método con tinción de plata para observar la presencia de pérdida de heterocigosidad.

#### ➤ Equipos y Reactivos

- Baño con agitación (Unitronic 320 OR).
- Cubetas de cristal.
- Puntas y pipetas.
- Agua destilada.
- Etanol absoluto (EtOH de Scharlan).
- Acido acético (AcOH de Probus).
- Nitrato de plata ( $\text{AgNO}_3$  de Panreac).
- Hidróxido sódico (NaOH de Merck).
- Formaldehído (Merck).
- Carbonato sódico ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$  de Merck).

➤ Procedimiento

El revelado se realizó en cubetas de cristal que estaban en continua agitación en un baño a 25°C, para conseguir una buena fijación y tinción de las bandas.

Se colocaron los geles en una solución de fijación (etanol al 10%, ácido acético al 0,5% y agua destilada) durante 5 minutos. Se repitió la fijación durante otros 5 minutos.

Se retiró la solución fijadora y se tiñeron los geles con una solución de  $\text{AgNO}_3$  al 0,1% durante 15 minutos. Se realizaron dos cambios rápidos en agua destilada para lavar los geles.

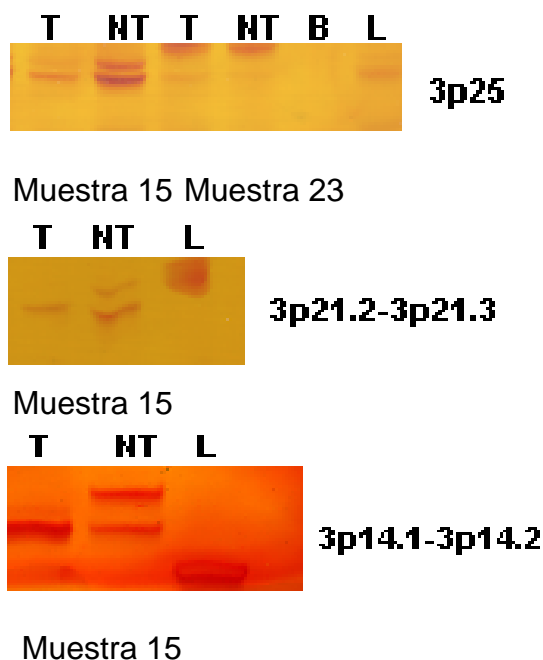
Se dejaron los geles durante 10 minutos en una solución que contenía  $\text{NaOH}$  5M y formaldehído al 40%. A continuación se retiró esta solución y se dejó que actuara una solución de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  al 0,75% durante 5 minutos.

Los geles revelados se identificaron y posteriormente se escanearon identificando todas las muestras y el día del revelado.

#### A.4 Interpretación de los resultados

La pérdida de heterocigosidad fue definida como una reducción de la intensidad de uno de los alelos de la muestra tumoral (aproximadamente en más de un 50% visualmente) comparándolos con los dos alelos de la muestra no tumoral (control). Definimos la inestabilidad de microsatélite cuando presentaba alelos añadidos en la muestra tumoral. Se presentó un caso, en el que la muestra de tejido renal sano presentaba pérdida de un alelo al igual que en la muestra tumoral y lo consideramos no informativo para LOH en 3p14.1-14.3 (D3S1228).

Las imágenes siguientes representan los geles en los que se estudio la LOH en 3p en los tumores comparando la muestra tumoral y la muestra de tejido sano (Figura 10.)



**Figura 10.** Geles en los que se estudió LOH en 3p con los marcadores genéticos. La muestra 15 presentaba LOH en los 3 marcadores.

---

### 3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Este trabajo es un estudio de cohortes retrospectivo. Las variables cualitativas se presentan con su distribución de frecuencias. Las variables cuantitativas se resumen en su media, desviación estándar (DE) y rango. En distribuciones asimétricas se presenta la mediana y su rango intercuartílico (RIC).

Se evaluó la asociación entre variables cualitativas con el test de  $\chi^2$  y, en el caso de que más de un 25% de los esperados fueran menores de 5, por la prueba exacta de Fisher. En el caso de variables ordinales se contrastó la hipótesis de tendencia ordinal de proporciones.

Se analizó el comportamiento de las variables cuantitativas por cada una de las variables independientes categorizadas mediante el test de la t de Student (en comparaciones de una variable con dos categorías) y/o el análisis de la varianza (ANOVA). El análisis de la varianza (ANOVA) permite evaluar las diferencias de medias debido al efecto individual, o principal de cada factor y/o al efecto de sus interacciones.

En todos los casos se comprobó la distribución de la variable frente a los modelos teóricos y se contrastó la hipótesis de homogeneidad de varianzas.

Las funciones de supervivencia han sido estimadas por el método de Kaplan-Meier para las variables independientes en el estudio de la supervivencia global (SG), supervivencia cáncer específica por CCR (SCE) la tasa acumulada libre de recidiva local (TLR), la tasa acumulada libre de metástasis (TLM) y la supervivencia libre de enfermedad (SLE). Se presentan las gráficas de las curvas estimadas y la mediana de la distribución. Estas gráficas se basan en comparar el número de eventos observados en cada uno de los subgrupos con el número de eventos esperados en el caso de que la distribución de la variable dependiente fuera la misma en todas las categorías (hipótesis nula). La comparación de las funciones de supervivencia de los distintos subgrupos se realizó mediante el test exacto de Breslow.

Ajustamos un modelo de regresión de riesgos proporcionales de Cox. Este modelo permite identificar y evaluar la relación entre un conjunto de variables explicativas y el tiempo de ocurrencia de un evento y también predecir el tiempo de supervivencia de un determinado sujeto a partir de los valores que toma en las variables explicativas o pronósticas.

$$h(t;x) = h_0(t) \cdot e^{\beta \cdot X} = h_0(t) \cdot e^{\beta_1 \cdot X_1 + \beta_2 \cdot X_2 + \beta_3 \cdot X_3 + \dots + \beta_p \cdot X_p}$$

**$h(t;x)$** 

Tasa de riesgo de un sujeto, con valores  $x = (x_1; x_2; \dots; x_p)$  en las variables explicativas, en el instante  $t$ . Es la variable respuesta que se modeliza. Representa el riesgo de fallecer o recaer en el instante  $t$  de los sujetos que tienen un determinado patrón de valores  $x$  en las variables explicativas.

 **$e^{\beta \cdot x}$** 

Fuente exponencial, cuyo componente es la combinación lineal, sin término constante, de las  $p$  variables explicativas  $x_i$ .

 **$h_0(t)$** 

Función de riesgo de referencia ("baseline" o "underlying hazard function"), que sólo depende del tiempo, llamada así porque representa las tasas instantáneas de riesgo de un sujeto hipotético con valor 0 en todas las variables predictivas.

Se evaluó la existencia de interacciones, introduciendo las variables independientes multiplicativas con pruebas de significación estadística y se mantienen en el modelo los términos de interacción estadísticamente significativos. Se presentan los "riesgos relativos" (RR) ajustados junto a sus IC 95%. La interpretación de los parámetros del modelo con signos positivos, indican el aumento de la tasa instantánea de riesgo, es decir, un peor pronóstico de un sujeto para un valor alto en la variable  $x$ . La contribución de una variable  $x$  se valora en el exponente  $e^{\beta}$ , que es el factor por el cual se

---

multiplica la tasa de riesgo instantáneo de un sujeto cuando la variable  $x$  se incrementa en una unidad. Este exponente se interpreta como el riesgo relativo en el instante  $t$  de los sujetos. En variables dicotómicas es pasar de la ausencia (0) a la presencia (1) del factor  $x$ . En variables cuantitativas el incremento lineal de la tasa de riesgo cuando se incrementa la variable  $x$  en una unidad. Este aumento es proporcional en todos los valores que toma la variable. En variables policotómicas (más de dos categorías) una categoría se toma como referencia y por lo tanto el RR es de 1. El resto de las categorías se comparan frente a la de referencia.

Los supuestos básicos que deben cumplir los datos para poder aplicar dicho modelo son sobre todo de la parte paramétrica ya que la contribución de las diferentes variables explicativas en la predicción de la supervivencia, o más precisamente, de la tasa instantánea de riesgo, es la misma en cualquier momento del tiempo de seguimiento. La parte no paramétrica del modelo no impone ningún supuesto sobre la forma de distribución de los tiempos de supervivencia.

En todos los contrastes de hipótesis se rechazó la hipótesis nula con un error de tipo I o error  $\alpha$  menor a 0,05.

El paquete informático utilizado para el análisis fue SPSS para Windows versión 20.0.



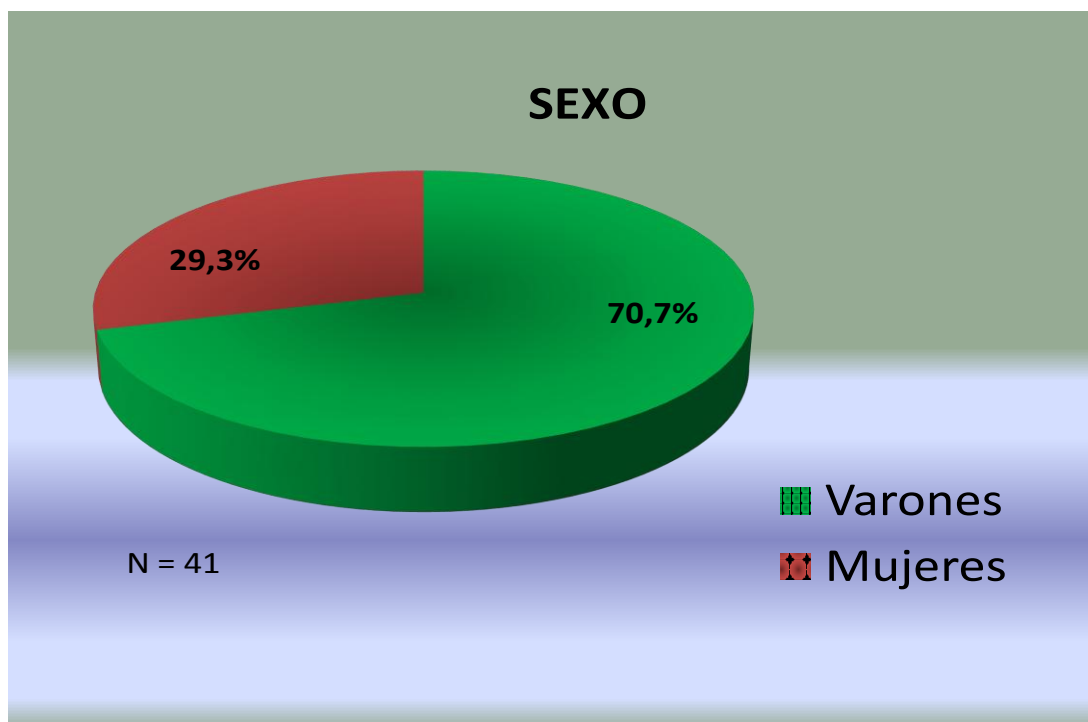
#### **4. CONSIDERACIONES ÉTICAS.**

En el momento del inicio del estudio no se planteó que el protocolo fuera evaluado por un comité de ética. La recogida de datos retrospectiva sobre la historia clínica no conllevó ningún cambio en la práctica clínica. En todo momento se siguieron el resto de las recomendaciones de la Declaración de Helsinki con respecto a la investigación en humanos y se anonimizaron todas las bases de datos.

# RESULTADOS

## DESCRIPCIÓN DE LA POBLACIÓN

La población en nuestro estudio se compone de un total de 41 pacientes, 29 varones y 12 mujeres diagnosticados de cáncer de células renales. La edad media fue de 60,5 años, con un rango comprendido entre 36 y 80 años y una desviación estándar de 11,98.



**Figura 11:** Distribución por sexos. Serie de 41 pacientes sometidos a nefrectomía. Hospital Clínico San Carlos de Madrid (1993-2010).

En nuestra serie, detectamos antecedentes neoplásicos en el (4/41 - 9,8%) de los pacientes: carcinoma de mama intraductal en el (1/41 - 2,44%); adenocarcinoma de sigma estadio B de Dukes en el (1/41 - 2,44%) y adenocarcinomas de próstata Gleason 3+3=6 y Gleason 3+4=7 (2/41 - 4,88%).

---

Durante el seguimiento 6 pacientes (14,6%) desarrollaron nuevas neoplasias: melanoma maligno de oreja (1/41 – 2,44%), leiomioma cutáneo (1/41 – 2,44%), adenocarcinoma de próstata Gleason 3+4=7 (1/41 – 2,44%), carcinoma de células renales de células claras estadio IV contralateral asincrónico que fue la causa de exitus del paciente (1/41 – 2,44%), cáncer neuroendocrino a 20 cm del margen anal con complicaciones en el postoperatorio que fue causa de su exitus (1/41 – 2,44%) y otro paciente con un carcinoma suprarrenal izquierdo con infiltración pancreática que en el postoperatorio falleció (1/41 – 2,44%).

Las variables clínico-patológicas actualizadas han sido resumidas en la tabla XVII. En ella puede observarse como relevantes el hábito tabáquico (21/38 – 52%) y la hipertensión (16/39 – 41%).

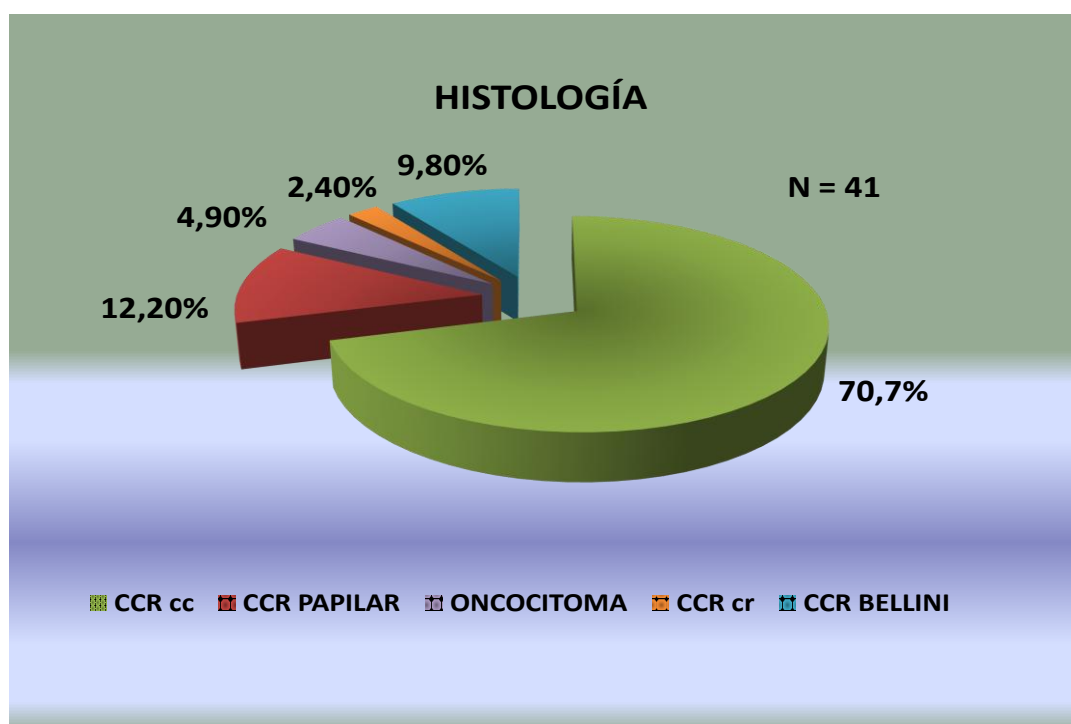
**Tabla XVII.** Descripción de las variables clínico-patológicas. Serie de 41 pacientes con tumores renales. Hospital Clínico San Carlos (1993-2010).

Variable	%	N
<u>DIAGNÓSTICO</u>		
Sintomático	58,5	24/41
Incidental	41,5	17/41
<u>ANTECEDENTES FAMILIARES</u>		
Si	73,5	25/41
No	26,5	16/41
<u>ANTECEDENTES NEOPLÁSICOS</u>		
Previos	9,8	4/41
Seguimiento	14,6	6/41
<u>TABACO</u>		
Si	51,2%	21/38
No	48,8%	17/38
<u>OBESIDAD</u>		
Si	64,1%	25/39
No	35,9%	14/39
<u>HTA</u>		
Si	41%	16/39
No	59%	23/39

## Características de los Tumores

### Tipo histológico

En la Figura 12 se describe la distribución de los 41 tumores renales utilizando la clasificación de la WHO de 2004 (3), CCR de células claras (CCRcc) 29/41 – 70,7%), CCR papilares (5/41 – 12,2%), CCR cromóforo (1/41 – 2,44%), CCR de los ductos colectores o de Bellini (4/41 – 9,8%) y oncocitomas (2/41 – 4,9%).



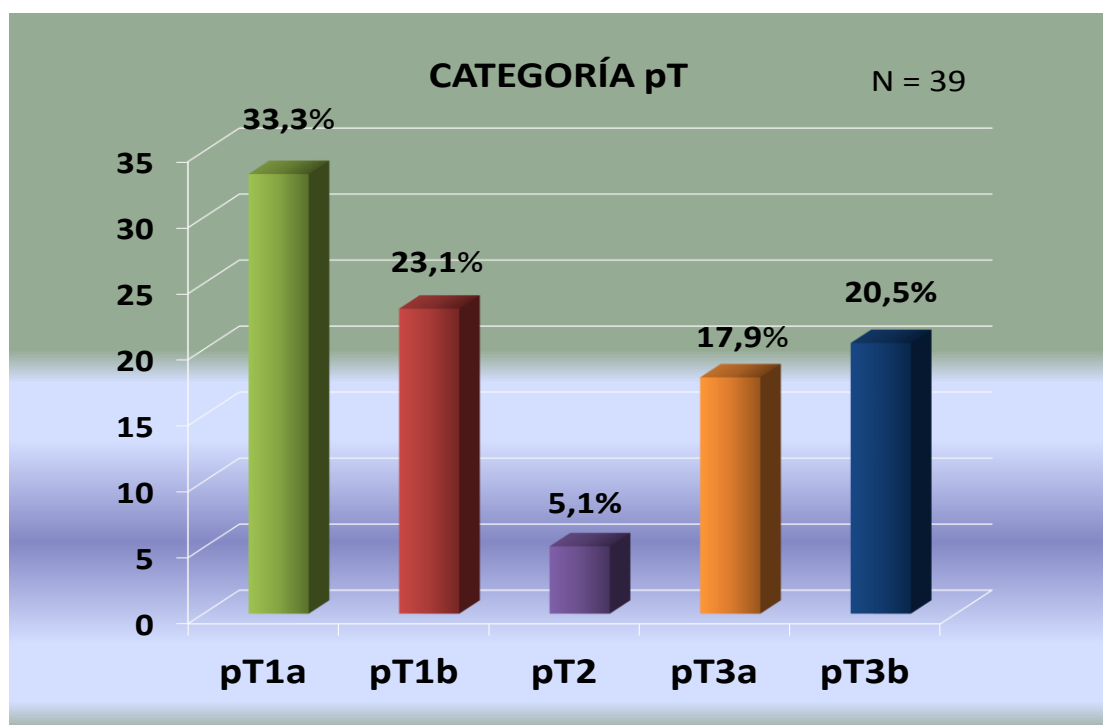
**Figura 12:** Distribución del tipo histológico según la clasificación WHO (2004). Serie de 41 pacientes sometidos a nefrectomía. Hospital Clínico San Carlos de Madrid (1993-2010).

## **Clasificación TNM**

A continuación describiremos nuestros resultados basados en la clasificación TNM del 2002 (73).

### Categoría pT

En la figura 13, se describe la distribución de los CCR según su categoría pT. Podemos observar la clasificación en: 22 tumores T1 (56,4%), que se repartían 13 tumores T1a (33,3%) y 9 tumores T1b (23,1%), 2 tumores T2 (5,1%) y 15 tumores T3 (38,5%). No hubo ningún tumor T4 en nuestra serie. Los tumores T3 se clasificaron en 7 tumores T3a (17,9%) y 8 tumores T3b (20,5%). Ningún tumor presentó afectación de la vena cava, ni de la glándula suprarrenal.



**Figura 13:** Distribución de los CCR según su categoría pT según clasificación TNM 2002. Serie de 41 pacientes sometidos a nefrectomía. Hospital Clínico San Carlos de Madrid (1993-2010).

#### Afectación ganglionar

En la Tabla XVIII se describen las características del único paciente que presentó afectación ganglionar, perteneciendo al grupo (N2), con más de un ganglio afectado. Este paciente presentó recidiva local, metástasis y falleció a los 5 meses de la intervención.

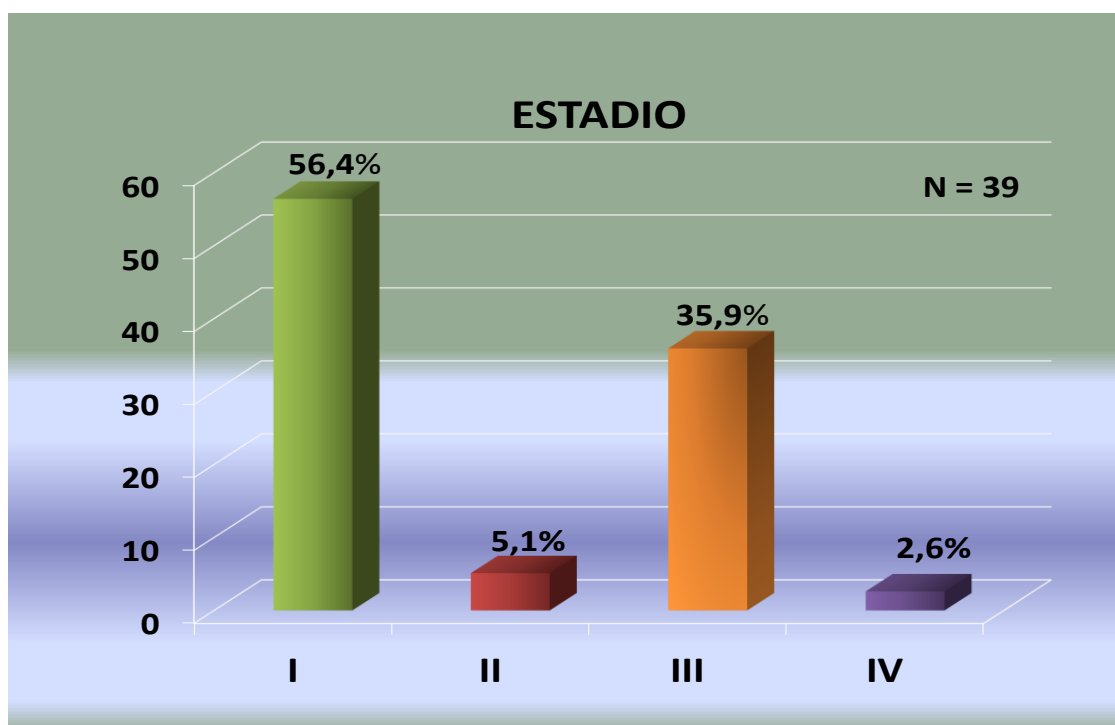


**Tabla XVIII.** Descripción de las características histopatológicas del tumor y estudio de la pérdida de heterocigosidad en el brazo corto del cromosoma 3 en el único paciente con afectación ganglionar de nuestra serie.

<b>Tipo Histológico</b>	CCRcc
<b>Tamaño</b>	50
<b>Grado</b>	4
<b>TNM</b>	T3bN2
<b>Estadio</b>	IV
<b>3p14</b>	No LOH
<b>3p12</b>	No LOH
<b>3p25</b>	Inestabilidad microsatélite

#### Estadio tumoral

Según la clasificación TNM propuesta por la Union Internationale Contre le Cancer (U.I.C.C.) and the American Joint Comittee on Cancer (A.J.C.C.) en su revisión en el 2002 (73), y como puede verse en la Figura 14; nuestra serie de 39 pacientes con CCR más dos oncocitomas, se distribuyó en: 22 pacientes (56,4%) en estadio I, 2 pacientes (5,1%) estadio II, 14 pacientes (35,9%) estadio III y 1 paciente (2,6%) estadio IV.

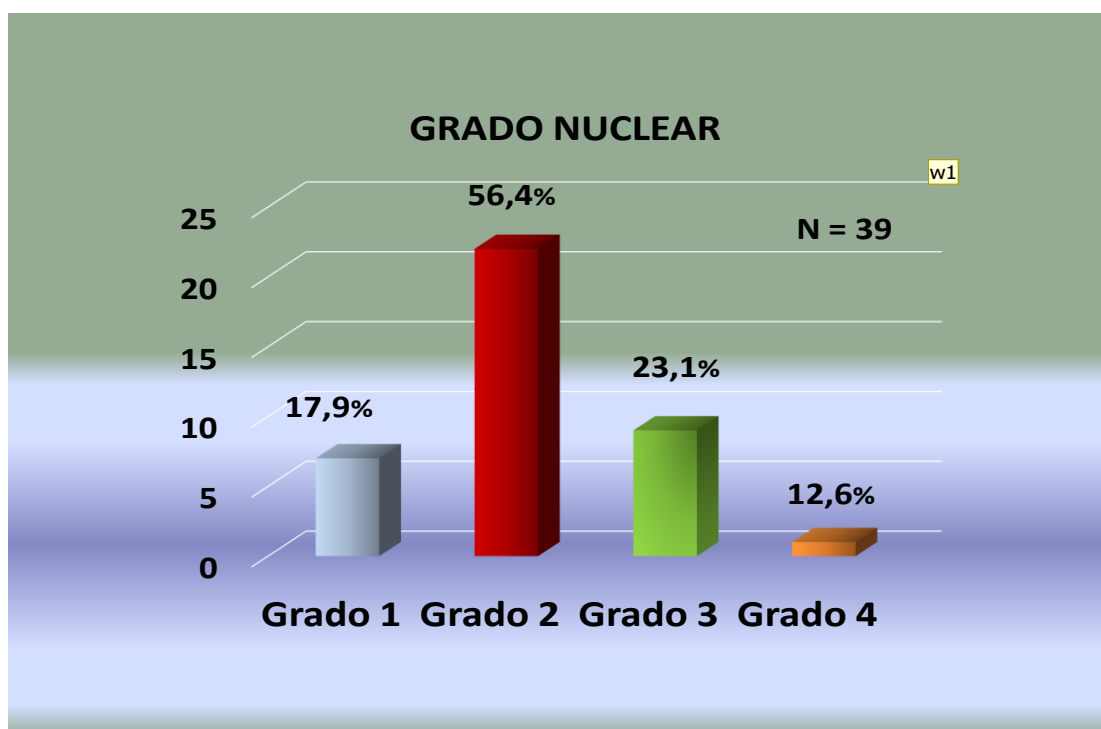


**Figura 14:** Distribución de los CCR según el estadio tumoral (TNM 2002). Serie de 41 pacientes sometidos a nefrectomía. Hospital Clínico San Carlos de Madrid (1993-2010).

### Grado de diferenciación nuclear

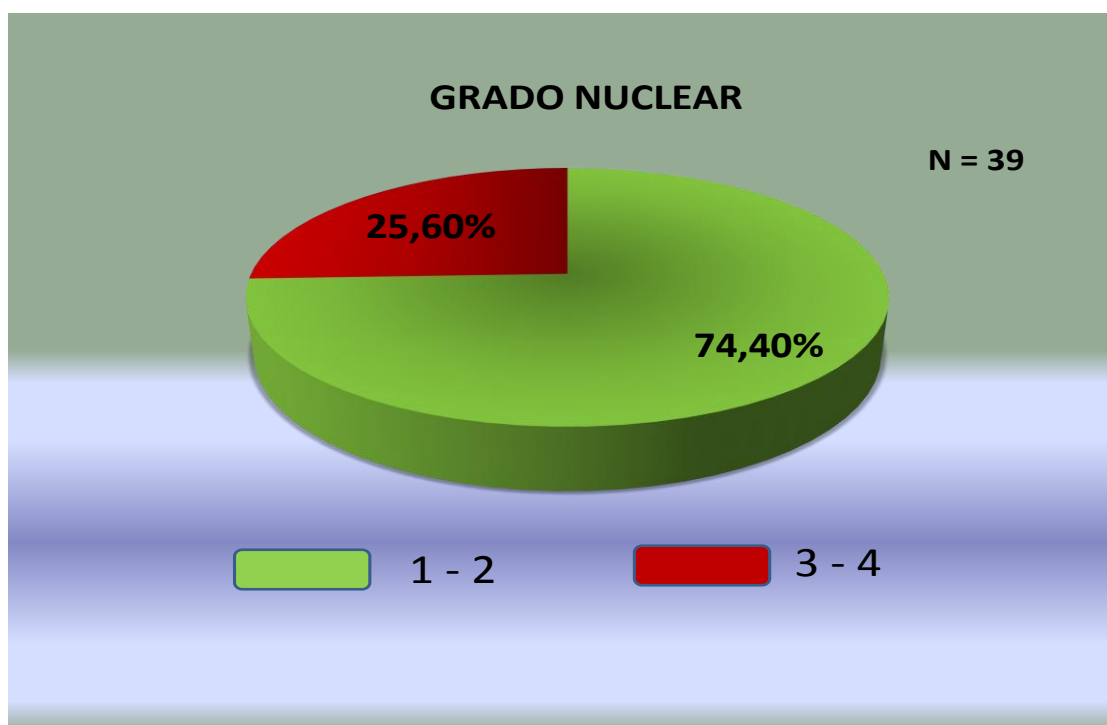
En la Figura XV se describe la distribución de los CCR según su grado nuclear.

Utilizamos la clasificación de Fuhrman (146) para distribuir los tumores según su grado de diferenciación nuclear. En nuestra serie, 7 tumores (17,9%) fueron grado 1, 22 tumores (56,4%) grado 2, 9 tumores (23,1%) grado 3 y 1 tumor (2,6%) grado 4.



**Figura 15:** Distribución relativa (%) de los CCR según su grado nuclear. Serie de 41 pacientes sometidos a nefrectomía. Hospital Clínico San Carlos de Madrid (1993-2010).

Para homogeneizar el análisis estadístico, agrupamos los grados en bajo (grados 1 y 2) y alto grado (grados 3 y 4). Este agrupamiento incluyó: 29 tumores de bajo grado (74,4%) y 10 de alto grado (25,6%) (Figura 16).



**Figura 16:** Distribución de los CCR según el grado de diferenciación nuclear en bajo grado y alto grado. Serie de 41 pacientes sometidos a nefrectomía. Hospital Clínico San Carlos de Madrid (1993 – 2010).

### Multifocalidad

Una de las características más importantes a tener en cuenta en la decisión terapéutica de estos tumores, es la multifocalidad. En nuestra serie encontramos 6 tumores multifocales (14,6%) distribuidos de la siguiente forma: CCRcc (2/29 – 10,34%), CCR papilares (2/5 – 40%) y cromóforo (1 caso).

### Características macroscópicas del tumor

El tamaño tumoral medio de la serie fue de 53,5 mm, con un rango comprendido entre 20 y 110 mm y una desviación estándar de 23,8.

En la Tabla XIX se describen las variables macroscópicas de los tumores de nuestra serie. En este sentido, el tumor fue descrito en la ecografía como una masa sólida en el 84,6% de los casos y con características solido-quísticas en el 15,4% restante. Respecto a la ubicación del tumor, el 24,4% fueron de polo superior; 24,4% mesorenales; 24,4% de polo inferior; 12,2% en polo superior-mesoriñón; 7,3% en mesoriñón-polo inferior y 7,3% de los tumores ocupaban más de 2/3 del riñón.

**Tabla XIX.** Descripción de las variables macroscópicas tumorales. Serie de 41 pacientes sometidos a nefrectomía. Hospital Clínico San Carlos de Madrid (1993 – 2010).

VARIABLE	%	n
<u>MASA DEL TUMOR (ECOGRAFÍA)</u>		
Sólida	84,6	33/39
Mixta	15,4	6/39
Quística	0,0	0
<u>LOCALIZACIÓN TUMORAL</u>		
Polo Superior	24,4	10/41
Mesoriñón	24,4	10/41
Polo Inferior	24,4	10/41
Polo Superior-Mesoriñón	12,2	5/41
Mesoriñón-Polo Inferior	7,3	3/41
Todo	7,3	3/41
<u>MULTIFOCALIDAD</u>		
Si	14,6	6/41
No	85,4	35/41

En la siguiente Tabla XX se describen con detalle todos los datos histopatológicos y las alteraciones genéticas del brazo corto del cromosoma 3p (3p14, 3p21 y 3p 25) en nuestra serie de 41 pacientes.

**Tabla XX.** Resumimos los datos histopatológicos y alteraciones genéticas de los 41 pacientes.

Tumor	Tipo histológico <sup>A</sup>	Tamaño	Grado <sup>B</sup>	TNM <sup>C</sup>	Estadio <sup>C</sup>	3p14 <sup>D</sup>	3p21 <sup>D</sup>	3p25 <sup>D</sup>
1	CCRcc	70	2	T3a N0	III	2	1	1
2	CCRcc	50	2	T1b N0	I	2	2	2
3	CCR Papilar	60	2	T3a N0	III	2	2	2
4	CCRcc	40	1	T1a N0	I	2	1	2
5	CCRcc	40	2	T3a N0	III	2	1	2
6	CCRcc	50	1	T3a N0	III	2	2	2
7	CCRcc	50	4	T3b N2	IV	2	2	3
8	CCRcc	60	3	T1b N0	I	2	1	2
9	CCRcc	60	2	T3b N0	III	2	1	2
10	CCRcc	68	2	T1b N0	I	2	1	3
11	CCRcc	60	3	T3b N0	III	2	1	2
12	CCR Papilar	20	3	T1a N0	I	2	2	2
13	CCR Papilar	50	2	T1b N0	I	2	2	2
14	Cromóforo	24	2	T1a N0	I	2	2	2
15	CCRcc	60	2	T1b N0	I	1	1	1
16	CCRcc	85	3	T3b N0	III	H	2	2
17	CCRcc	27	2	T1a N0	I	2	1	1
18	CCR Papilar	50	3	T3a N0	III	2	2	2
19	CCR Papilar	70	3	T1b N0	I	2	2	2
20	CCRcc	85	2	T3b N0	III	2	2	2
21	CCR Bellini	110	2	T2 N0	II	2	1	2
22	CCRcc	50	2	T3b N0	III	2	2	2
23	CCRcc	25	2	T1a N0	I	2	2	2
24	Oncocitoma	40	-	- - -	-	2	2	2
25	CCRcc	100	3	T3a N0	III	2	2	2
26	CCR Bellini	100	2	T2 N0	II	2	2	2
27	CCRcc	25	1	T1a N0	I	2	1	2
28	CCRcc	30	1	T1a N0	I	2	1	2
29	CCRcc	45	2	T3a N0	III	2	1	2
30	CCRcc	40	1	T1a N0	I	1	1	1
31	CCRcc	50	2	T1b N0	I	2	2	1
32	Oncocitoma	70	-	- - -	-	2	2	2
33	CCRcc	40	2	T1a N0	I	2	2	2
34	CCRcc	30	2	T1a N0	I	2	2	2
35	CCRcc	20	2	T1a N0	I	2	2	2
36	CCRcc	90	3	T3b N0	III	1	1	1
37	CCRcc	34	1	T1a N0	I	2	2	2
38	CCR Bellini	50	2	T1b N0	I	2	2	2
39	CCRcc	45	1	T1b N0	I	2	2	2
40	CCRcc	25	2	T1a N0	I	2	2	2
41	CCR Bellini	95	3	T3b N0	III	2	1	2

<sup>A</sup> Tipos celulares según la clasificación de WHO (2004) <sup>B</sup> Grados de diferenciación nuclear e Fuhrman. <sup>C</sup> Clasificación TNM y estadio según la UICC y AJCC (edición 2002). <sup>D</sup> 1: Pérdida de heterocigosidad 2: Retención de la heterocigosidad 3: Inestabilidad H: Homocigótico(no informativo).

### Relación del tipo histológico con la clasificación TNM.

En la tabla XXI describimos la relación entre los distintos tipos histológicos y la clasificación TNM del 2002. En los CCRcc hallamos 11/29 tumores (37,9%) pT1a; 6/29 (20,7%) pT1b; 5/29 (17,2%) pT3a y 7/29 (24,1%) pT3b. Los CCR papilares, se distribuyeron de la siguiente forma: 1/5 (20%) pT1a; 2/5 (40%) pT1b y 2/5 (40%) pT3b. El único CCR cromóforo de nuestra serie se clasificó como pT1a. Los CCR de los ductos colectores de Bellini se presentaron de la siguiente manera: 1/4 (25%) pT1b; 2/4 (50%) pT2 y 1/4 (25%) pT3b.

**Tabla XXI.** Relación entre el tipo histológico y la clasificación TNM de los 39 CCR de nuestra serie.

Tipo Histológico	pT1a	pT1b	pT2	pT3a	pT3b
CCRcc	11	6	0	5	7
CCR papilar	1	2	0	2	0
CCR cromóforo	1	0	0	0	0
CCR ductos colectores	0	1	2	0	1

### Relación del tipo histológico con el estadio tumoral

En nuestra serie de 39 CCR, la distribución por tipo histológico y estadio, según se puede apreciar en la tabla XXII, fue la siguiente: 17/29 (58,6%) de los CCRcc fueron estadio I; 11/29 CCRcc (37,9%) estadio III y un paciente (3,4%) estadio IV. Los CCR papilares fueron 3/5 (60%) estadio I y 2/5 (40%) estadio III. El CCR cromóforo fue un estadio I. Los CCR de ductos colectores 1/4 (25%) estadio I; 2/4 (50%) estadio II y 1/4 (25%) estadio III.

**Tabla XXII.** Relación entre el tipo histológico y el estadio tumoral de los 39 CCR de nuestra serie.

<b>Tipo Histológico</b>	<b>I</b>	<b>II</b>	<b>III</b>	<b>IV</b>
CCRcc	17	0	11	1
CCR papilar	3	0	2	0
CCR cromóforo	1	0	0	0
CCR ductos colectores	1	2	1	1

### Relación del tipo histológico con el grado nuclear

En la Tabla XXIII relacionamos el tipo histológico con el grado nuclear según la clasificación de Fuhrman y agrupando los grados 1-2 y 3-4; encontramos en nuestra serie de 39 CCR que el 79,3% de los CCRcc (23/29) fueron grado 1-2 y el 20,7% (6/29) grados 3-4. Los CCR papilares 2/5 (40%) fueron grado 1-2 mientras que el 60% (3/5) grados 3-4. El CCR cromóforo fue grado 2. Los CCR de ductos colectores, el 75% (3/4) fueron grado 1-2 y 1/4 (25%) grado 3.

**Tabla XXIII.** Relación entre el tipo histológico y el grado nuclear de los 39 CCR de nuestra serie.

<b>Tipo Histológico</b>	<b>1 -2</b>	<b>3-4</b>
CCRcc	23	6
CCR papilar	2	3
CCR cromóforo	1	0
CCR ductos colectores	3	1



---

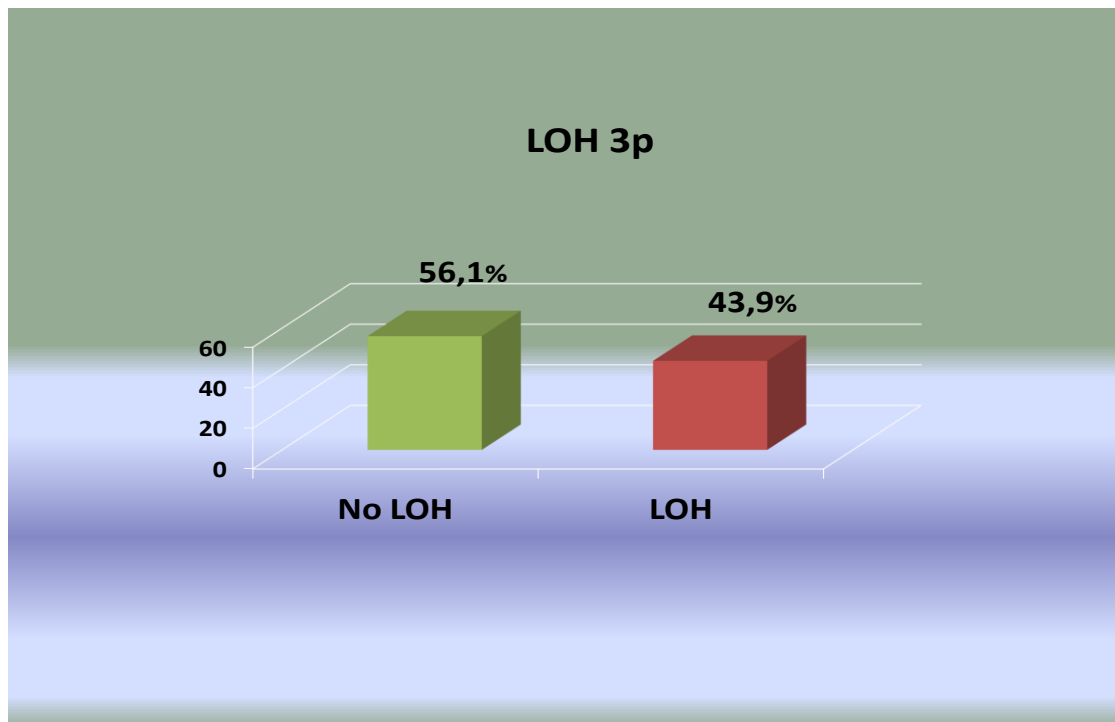
## **ESTUDIO DE LA PÉRDIDA DE HETEROCIGOSIDAD EN EL BRAZO CORTO DEL CROMOSOMA 3**

Este apartado analiza con detalle el estudio de la pérdida de heterocigosidad en el brazo corto del cromosoma 3, su correlación con el tipo histopatológico, el grado nuclear, el estadio tumoral y el mapa de deleciones en los CCR con pérdida de heterocigosidad en 3p.

### **1. Estudio de las alteraciones genéticas en el cromosoma 3**

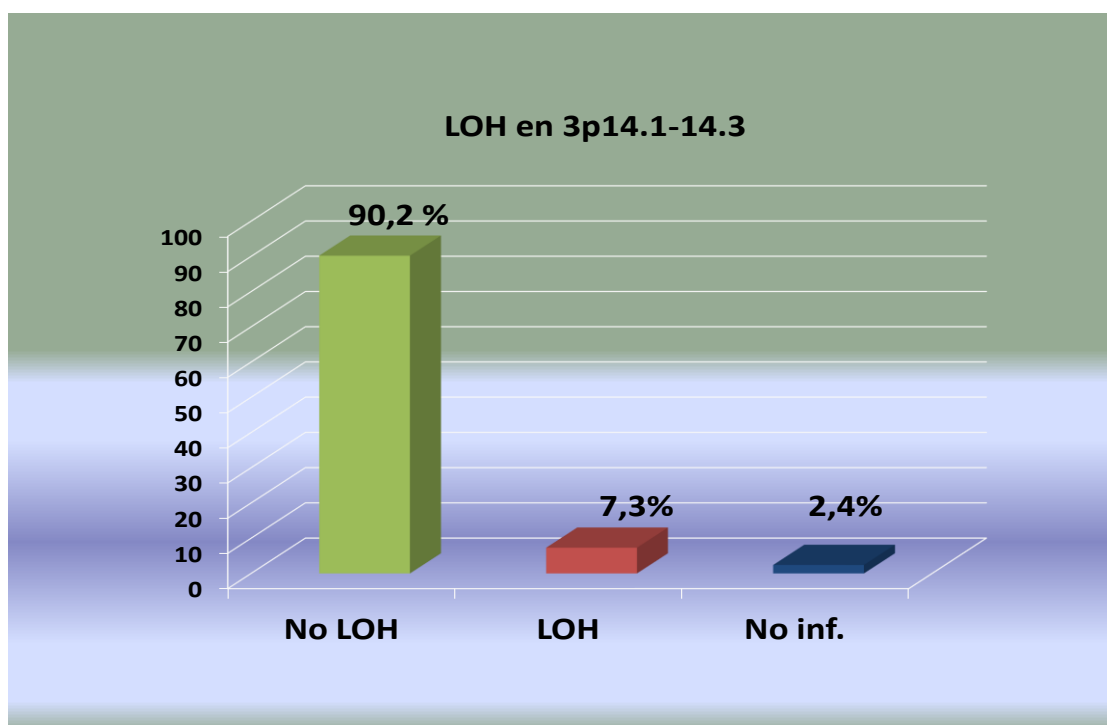
Hemos analizado las pérdidas alélicas (LOH) en el brazo corto del cromosoma 3, en nuestra serie de 41 pacientes. Para ello, utilizamos 3 marcadores de microsatélites (D3S1228 que se localiza en 3p14.1-14.3, D3S1029 en 3p21.2-21.3 y D3S1038 en 3p25). Además hemos estudiado la presencia de inestabilidad microsatélite en esta región.

En nuestra serie, el 43,9% (18/41) presentaron LOH y/o inestabilidad cromosómica en 3p y en un 56,1% (23/41) no encontramos ninguna de estas alteraciones.



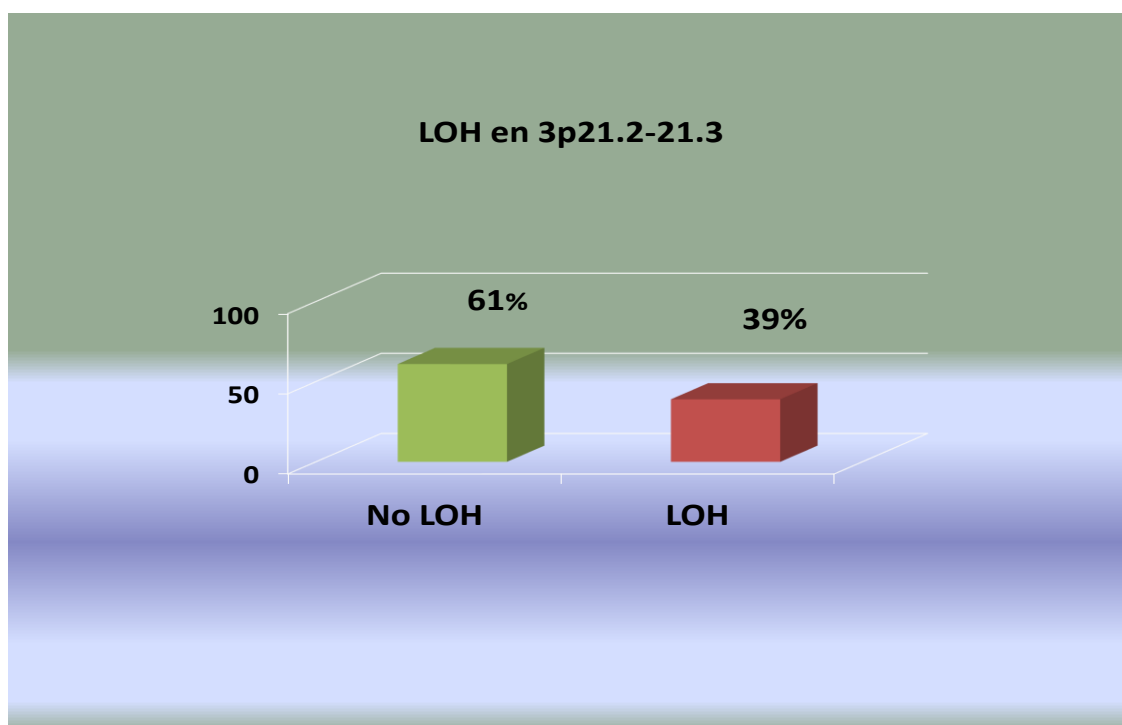
**Figura 17:** Pérdida de heterocigosidad LOH en el brazo corto del cromosoma 3 en nuestra serie de 41 pacientes sometidos a nefrectomía. Hospital Clínico San Carlos de Madrid (1993-2010).

Cuando analizamos los marcadores de microsatélites, encontramos pérdida de la heterocigosidad de 3p14 en 3/41 pacientes (7,3%), 1 paciente (2,4%) fue no informativo por ser homocigótico en el estudio de la pérdida de heterocigosidad en 3p14, 37/41 pacientes (90,2%) no presentaban alteraciones genéticas a nivel del marcador D3S1228.



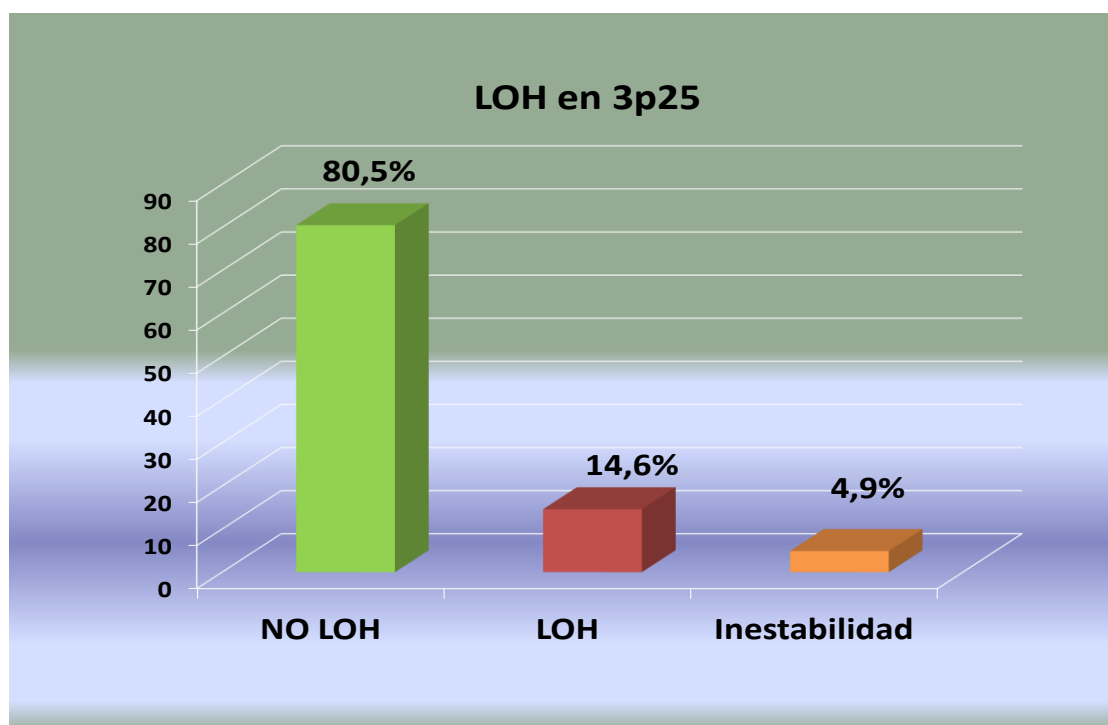
**Figura 18:** Pérdida de heterocigosidad LOH en 3p14.1-14.3 (D3S1228) en nuestra serie de 41 pacientes sometidos a nefrectomía. Hospital Clínico San Carlos de Madrid (1993-2010).

En el estudio de la región 3p21, 16 pacientes (39%) presentaban LOH y 25 pacientes (61%) no presentaron alteraciones genéticas en el marcador D3S1029.



**Figura 19:** Pérdida de heterocigosidad LOH en 3p21.2-21.3 (D3S1029) en nuestra serie de 41 pacientes sometidos a nefrectomía. Hospital Clínico San Carlos de Madrid (1993-2010).

Las alteraciones a nivel de 3p25 que se describen en la Figura 20 fueron: 6 pacientes (14,6%) tuvieron pérdida de heterocigosidad, 2 pacientes (4,9%) presentaron inestabilidad microsatélite y 33 pacientes (80,5%) no presentaron alteraciones genéticas en el marcador D3S1038.



**Figura 20:** Pérdida de heterocigosidad LOH en 3p25 (D3S1038) en nuestra serie de 41 pacientes sometidos a nefrectomía. Hospital Clínico San Carlos de Madrid (1993-2010).

### 1.1 Estudio de la pérdida de heterocigosidad y/o inestabilidad microsatelite.

Estas dos alteraciones genéticas han sido agrupadas en una sola variable, LOH y/o inestabilidad en el brazo corto del cromosoma 3 (3p) para relacionarlos con las variables clínico-patológicas y con los factores pronósticos clásicos.

Con esta agrupación encontramos 43,9% (18 pacientes) con LOH y/o inestabilidad cromosómica en los locus D3S1228 que se localiza en 3p14.1-14.3, D3S1029 en 3p21.2-21.3 y D3S1038 en 3p25.

---

### 1.1.1 Relación con las variables clínico-patológicas

En la tabla XXIV analizamos el estudio de la relación de la LOH en 3p con las variables clínico-patológicas, observamos que el 42,9% de los hombres y el 50% de las mujeres presentaban esta alteración ( $p=0,68$ ). El 48% de los pacientes que tenían antecedentes familiares de cáncer y el 44% de los que no los tenían, presentaban LOH en 3p ( $p=0,85$ ). El 75% de los pacientes con antecedentes neoplásicos y el 41,7% de los pacientes sin antecedentes de cáncer, presentaron esta alteración ( $p=0,19$ ).

El 41,7% de los pacientes con un diagnóstico sintomático y el 52,6% en los que el diagnóstico fue incidental presentaban LOH en 3p ( $p=0,60$ ).

Respecto a las variables macroscópicas del tumor, el 43,8% de los tumores sólidos y el 66,7% de los tumores mixtos presentaban pérdida de heterocigosidad ( $p=0,30$ ). Además el 16,7% de los tumores multifocales y el 50% de los tumores sin multifocalidad presentaron LOH ( $p=0,11$ ).

**Tabla XXIV.** Relación LOH en 3p con las variables clínico-patológicas. Serie de 41 pacientes sometidos a nefrectomía. Hospital Clínico San Carlos de Madrid (1993 – 2010).

VARIABLE	PREVALENCIA LOH %	PREVALENCIA LOH N	p
<u>SEXO</u>			
Varón	42,9	12/28	0,68
Mujer	50	6/12	
<u>ANTECEDENTES FAMILIARES</u>			
Si	48	12/25	0,85
No	44,4	4/9	
<u>ANTECEDENTES NEOPLÁSICOS</u>			
Si	75	3/4	0,20
No	41,7	15/36	
<u>DCO</u>			
Sintomático	41,7	10/24	0,60
Indicental	50	8/16	
<u>HTA</u>			
Si	50	8/16	0,50
No	39,1	9/23	
<u>TABACO</u>			
Si	38,1	8/21	0,36
No	52,9	9/17	
<u>MULTIFOCALIDAD</u>			
Si	16,7	1/6	0,11
No	50	18/40	

Queremos resaltar que no encontramos ninguna asociación estadísticamente significativa entre la LOH en 3p y las variables clínicas analizadas.

### 1.1.2 Relación con los factores pronóstico-clásicos

Este apartado que se complementa con la tabla XXV describe la relación entre la pérdida de heterocigosidad en el brazo corto del cromosoma 3 y los factores pronósticos-clásicos.

En relación de la LOH en los locus D3S1228, D3S1029 y D3S1038 en 3p con los factores pronósticos clásicos (Tabla XXV), observamos que, solo presentaban LOH en 3p los CCR de células claras y los CCR de los ductos colectores de Bellini. Por otra parte, no presentaron LOH en 3p ni los CCR papilares, ni el CCR cromóforo, ni los 2 oncocitomas. Destacando que el 57,1% de los CCR de células claras y el 50% de los CCR de los ductos colectores, presentaron LOH en 3p ( $p=0,02$ ).

Analizando el grado nuclear, debemos destacar que tenían LOH en 3p el 57,1% de los grado 1, el 40,9% de los grado 2, el 50% de los grado 3 y el 100% de los grado 4 ( $p=0,54$ ). Al agrupar los grados nucleares, tampoco encontramos significación. En este sentido, el 44,8% de los grados 1 y 2 (bajo grado) y el 55,6% de los grados 3 y 4 (alto grado) presentaron LOH en 3p ( $p=0,57$ ).

Respecto al tamaño tumoral, la distribución en porcentajes de LOH en 3p fue la siguiente: el 38,5% de los pT1a, el 44,4% de los pT1b, el 50% de los pT2, el 42,9% de los pT3a y el 71,4% de los pT3b ( $p=0,70$ ).



Encontramos LOH en 3p en el 40,9% de los estadio I, el 50% de los estadio II, el 53,8% de los estadio III y también presentó LOH en 3p, el único paciente de los estadio IV ( $p=0,55$ ).

**Tabla XXV.** Relación LOH en 3p con los factores pronósticos-clásicos. Serie de 41 pacientes sometidos a nefrectomía. Hospital Clínico San Carlos de Madrid (1993 – 2010).

VARIABLE	PREVALENCIA LOH %	PREVALENCIA LOH n	p
<u>TIPO HISTOLÓGICO</u>			
CCR cc	55,17	16/29	0,02
CCR Papilar	0	0/5	
CCR Cromóforo	0	0/1	
Oncocitomas	0	0/2	
CCR Bellini	50	2/4	
<u>GRADO NUCLEAR</u>			
1	57,1	4/7	0,54
2	40,9	9/22	
3	50	4/8	
4	100	1/1	
<u>GRADO NUCLEAR AGRUPADO</u>			
1-2	44,8	13/29	0,57
3-4	55,6	5/9	
<u>TAMAÑO TUMORAL</u>			
pT1a	38,5	5/13	0,70
pT1b	44,4	4/9	
pT2	50	1/2	
pT3a	42,9	3/7	
pT3b	71,4	5/7	
<u>ESTADIO</u>			
I	40,9	9/22	0,55
II	50	1/2	
III	53,8	7/13	
IV	100	1/1	

### 1.1.3 Relación con las variables de evolución post-operatoria.

En la tabla XXVI presentamos la relación de la pérdida de heterocigosidad en el brazo corto del cromosoma 3 con las variables de evolución post-operatoria.

Encontramos LOH en 3p, en 3 de los 4 pacientes (75%) que presentaron recidiva local y en el 41,7% de los que no presentaron recidiva ( $p=0,20$ ). El 62,5% de los pacientes que presentaron metástasis tenían LOH en 3 p y el 40,6% de los que no presentaron metástasis ( $p=0,27$ ). Presentaron LOH en 3p el 60% de los pacientes que fallecieron a causa de su CCR, así como el 40% de los pacientes que fallecieron por otras causas y el 43,3% de los pacientes que se encontraban libres de enfermedad ( $p=0,76$ ).

**Tabla XXVI.** Relación LOH en 3p con las variables de evolución postoperatoria. Serie de 41 pacientes sometidos a nefrectomía. Hospital Clínico San Carlos de Madrid (1993 – 2010).

VARIABLES	PREVALENCIA LOH %	PREVALENCIA LOH n	p
<u>RECIDIVA LOCAL</u>			
Si	75	3/4	0,20
No	41,7	13/32	
<u>METÁSTASIS</u>			
Si	62,5	5/8	0,27
No	40,6	13/32	
<u>ÉXITUS CCR</u>			
CCR	60	3/5	0,76
Otras causas	40	2/5	
Libres de enfermedad	43,3	13/30	

## 1.2 Estudio de la pérdida de heterocigosidad en 3p14.1-14.3

El 7,3% (3 pacientes) de la serie presentaron pérdida de heterocigosidad en el estudio de la pérdida de heterocigosidad de la región 3p14.1-14.3 en el microsatélite D3S1228. En 1 caso (2,4%) fue no informativo.

Debido a que el tamaño muestral es pequeño, no hemos realizado un estudio estadístico de estos pacientes con las diferentes variables clínico-patológicas y los factores pronósticos clásicos. A continuación describiremos las características de estos pacientes.

**Tabla XXVII.** Descripción de las características tumorales en los pacientes con LOH en 3p14.1-14.3 de nuestra serie de 41 pacientes sometidos a nefrectomía. Hospital Clínico San Carlos de Madrid (1993-2010).

Tumor	Tipo histológico <sup>A</sup>	Tamaño	Grado <sup>B</sup>	TNM <sup>C</sup>	Estadio <sup>C</sup>	3p14 <sup>D</sup>	3p21 <sup>D</sup>	3p25 <sup>D</sup>
15	CC	60	2	T1b N0 M0	I	1	1	1
30	CC	40	1	T1a N0 M0	I	1	1	1
36	CC	90	3	T3b N0 M0	III	1	1	1

El primer paciente es un varón de 55 años de edad, obeso, con antecedentes familiares de cáncer con sintomatología al diagnóstico. En la ecografía se detecta masa única sólida en el riñón derecho. Intervenido en el año 1996, el tumor tenía 60 mm de tamaño y se trató de un CCR de células claras grado 2 (T1b N0 M0, estadio tumoral I). No presentó recidiva y permaneció vivo hasta el cierre del estudio.

---

El siguiente paciente es varón de 57 años de edad, fumador, con antecedentes familiares de cáncer y diagnóstico sintomático. Intervenido en abril de 1997, el tumor era sólido único localizado en el riñón derecho y con un tamaño de 40 mm. El diagnóstico histopatológico fue un CCR de células claras, grado I (T1a N0 M0, estadio I). Este paciente es el único que se ha perdido en el seguimiento desde el alta después de la cirugía.

El tercer paciente es otro varón de 65 años con antecedentes neoplásicos de un adenocarcinoma de próstata Gleason 3 + 4= 7, que en el estudio de extensión se descubre un tumor renal. Intervenido en Julio de 1996, el informe de anatomía patológica describe un tumor sólido de 90 mm multifocal e histológicamente constituido por células claras, grado 3 (T3b No Mo, estadio III). No presenta recidiva ni metástasis en el seguimiento y se trasladó a Burgos en 2004.

Destacar que estos tres pacientes que presentaron pérdida de heterocigosidad en 3p14.1-14.3 también tenían pérdida de heterocigosidad en 3p21.2-21.3 y en 3p25, por lo que consideramos que estos pacientes podrían tener deleciones terminales del brazo corto del cromosoma 3 (3p).

---

### 1.3 Estudio de la pérdida de heterocigosidad en 3p21.2-21.3

El 39% (16/41) presentaron LOH en el locus 3p21.2-21.3.

#### 1.3.1 Relación con las variables clínico-patológicas.

En la Tabla XXVIII resumimos la relación de LOH en 3p21.2-3p21.3 con las variables clínico-patológicas.

El 34,5% de los hombres y el 50% de las mujeres presentaban pérdida de heterocigosidad en 3p21.2-21.3 ( $p=0,35$ ). El 40% de los pacientes que presentaban antecedentes familiares de cáncer y el 75% de los que habían presentado antecedentes neoplásicos tenían alteraciones genéticas en 3p21.

El 33,3% de los pacientes sintomáticos así como el 47,1% de los pacientes con diagnóstico incidental presentaban dicha alteración ( $p=0,37$ ).

El 16,7% de los tumores multifocales y el 42,9% de los tumores sin multifocalidad tenían LOH en 3p21 ( $p=0,20$ ). No encontramos asociación estadísticamente significativa entre la pérdida de heterocigosidad con las variables clínicas HTA y tabaco ( $p=0,57$  y  $p=0,13$  respectivamente).

**Tabla XXVIII.** Relación LOH en 3p21.2-21.3 con las variables clínico-patológicas. Serie de 41 pacientes sometidos a nefrectomía. Hospital Clínico San Carlos de Madrid (1993 – 2010).

VARIABLE	PREVALENCIA LOH %	PREVALENCIA LOH N	P
<u>SEXO</u>			
Varón	34,5	10/29	0,36
Mujer	50	6/12	
<u>ANTECEDENTES FAMILIARES</u>			
Si	40	10/25	0,82
No	44,4	4/9	
<u>ANTECEDENTES NEOPLÁSICOS</u>			
Si	75	3/4	0,12
No	35,1	13/37	
<u>DCO</u>			
Sintomático	33,3	8/24	0,38
Indicental	47,1	8/17	
<u>HTA</u>			
Si	43,8	7/16	0,57
No	34,8	8/23	
<u>TABACO</u>			
Si	28,6	6/21	0,13
No	52,9	9/17	
<u>MULTIFOCALIDAD</u>			
Si	16,7	1/6	0,20
No	42,9	15/35	

### 1.3.2 Relación con los factores pronóstico-clásicos

Respecto a la relación de la LOH en 3p21 con los factores pronóstico clásicos (Tabla XXIX), hemos observado que en cuanto al tipo histológico, el 48,3% de los CCR de células claras y el 50% de los CCR de los ductos

---

colectores de Bellini presentaban alteraciones en el locus 3p21. En estos casos obtuvimos una asociación estadísticamente significativa ( $p < 0,05$ ).

Por otra parte, ninguno de los CCR papilares, ni el CCR cromóforo, ni los oncocitomas presentaron LOH en 3p21.

En cuanto al grado de diferenciación nuclear; el 57,1% de grado 1, el 36,4% de grado 2 y el 44,4% de grado 3 presentaban pérdida de heterocigosidad en 3p21 ( $p = 0,56$ ). Al agrupar por grados de diferenciación nuclear, el 41,4% de los tumores de bajo grado (grado 1 y 2) y el 40% de los tumores de alto grado (grado 3 y 4) presentaban alteración en 3p21 ( $p = 0,94$ ) (Tabla XXIX).

Al analizar la categoría pT encontramos LOH en 3p21.2-21.3 en el 38,5% de los tumores pT1a, en el 33,3% de los pT1b, en el 50% de los pT2, en el 42,9% de los de los pT3a y en el 50% de los tumores pT3b ( $p = 0,96$ ) (Tabla XXIX).

Por último, en el análisis del estadio, el 36,4% de los tumores en estadio I, el 50% de los tumores en estadio II y el 50% en estadio III, tenían dicha alteración cromosómica ( $p = 0,62$ ) (Tabla XXIX).

**Tabla XXIX.** Relación LOH en 3p21.2-21.3 con los factores pronósticos-clásicos. Serie de 41 pacientes sometidos a nefrectomía. Hospital Clínico San Carlos de Madrid (1993 – 2010).

VARIABLE	PREVALENCIA LOH %	PREVALENCIA LOH n	p
<u>TIPO HISTOLÓGICO</u>			
CCR cc	48,3	14/29	0,05
CCR Papilar	0	0/5	
CCR Cromóforo	0	0/1	
Oncocitomas	0	0/2	
CCR Bellini	50	2/4	
<u>GRADO NUCLEAR</u>			
1	57,1	4/7	0,57
2	36,4	8/22	
3	44,4	4/9	
4	0	0/1	
<u>GRADO NUCLEAR AGRUPADO</u>			
1-2	41,4	12/29	0,94
3-4	40	4/10	
<u>CATEGORÍA pT</u>			
pT1a	38,5	5/13	0,96
pT1b	33,3	3/9	
pT2	50	1/2	
pT3a	42,9	3/7	
pT3b	50	4/8	
<u>ESTADIO</u>			
I	36,4	8/22	0,62
II	50	1/2	
III	50	7/14	
IV	0	0/1	



### 1.3.3 Relación con las variables de evolución postoperatoria

En la tabla XXX presentamos la relación de la pérdida de heterocigosidad en la región 3p21.2-21.3 con las variables de evolución postoperatoria (recidiva, metástasis y exitus).

Encontramos LOH en 3p21.2-21.3, en 2 de los 4 pacientes (50%) que presentaron recidiva local y en el 37,8% de los que no presentaron recidiva ( $p=0,64$ ). (Tabla XXX). El 37,5% de los pacientes que presentaron metástasis tenían LOH en 3p21 y el 39,4% de los que no presentaron metástasis ( $p=0,92$ ). (Tabla XXX). Los pacientes que fallecieron por CCR presentaron LOH en 3p21 el 40% de los casos; también detectamos LOH en el 40% de los pacientes que fallecieron por otras causas y en el 38,7% de los pacientes que se encontraban libres de enfermedad ( $p=0,99$ ). (Tabla XXX).

**Tabla XXX.** Relación LOH en 3p21.2-21.3 con las variables de evolución postoperatoria. Serie de 41 pacientes sometidos a nefrectomía. Hospital Clínico San Carlos de Madrid (1993 – 2010).

VARIABLES	PREVALENCIA LOH %	PREVALENCIA LOH n	p
<u>RECIDIVA LOCAL</u>			
SI	50	2/4	0,64
No	37,8	14/37	
<u>METÁSTASIS</u>			
Si	37,5	3/8	0,92
No	39,4	13/33	
<u>ÉXITUS CCR</u>			
CCR	40	2/5	0,99
Otras causas	40	2/5	
Libres de enfermedad	38,7	12/31	

---

## **1.4 Estudio de la pérdida de heterocigosidad y/o inestabilidad cromosómica en 3p25.**

Analizamos la LOH y/o inestabilidad 3p25 y encontramos pérdida en: 6 pacientes (14,6%) y en 2 (4,9%) describimos inestabilidad microsatélite. En 33 casos (80,5%) no encontramos alteraciones genéticas en el marcador D3S1038.

### **1.4.1 Relación con las variables clínico-patológicas.**

En la tabla XXXI presentamos la relación de la pérdida de heterocigosidad en la región 3p25 y la inestabilidad microsatélite en dicha región, con las variables clínico-patológicas.

Debido a que el tamaño muestral era pequeño en relación con la inestabilidad microsatélite en 3p25, a continuación describiremos las características de los 2 pacientes que presentaban dicha inestabilidad. (Tabla XXXI).

El primer paciente era un varón de 48 años de edad, fumador con antecedentes familiares de cáncer y sintomático. La masa del tumor en la ecografía era única y sólida en el riñón izquierdo. Intervenido en el año 1996, el tumor tenía 50 mm de tamaño y se trató de un CCR de células claras, grado 4 de Fuhrman y no presentaba multifocalidad, (T3b N2, estadio tumoral IV). A los

3 meses detectamos recidiva local y metástasis pulmonares, falleciendo al 5º mes de la intervención.

La otra paciente era una mujer de 60 años de edad, obesa, con antecedentes familiares de cáncer y con diagnóstico incidental. La masa del tumor en la ecografía era sólida y localizada en el riñón derecho. Intervenida en el año 1996, el tumor tenía 68 mm de tamaño y se trató de un CCR de células claras con un grado 2 de diferenciación nuclear y sin multifocalidad. Según el TNM, fue un T1b N0 (estadio tumoral I). Además de la inestabilidad microsatélite en 3p25 presentaba pérdida de heterocigosidad en 3p21.2-21.3. Esta paciente no presenta recidiva y permanece viva hasta el final del estudio.

**Tabla XXXI.** Descripción de las características tumorales en los pacientes con inestabilidad microsatélite en 3p25LOH en nuestra serie de 41 pacientes sometidos a nefrectomía. Hospital Clínico San Carlos de Madrid (1993-2010).

Tumor	Tipo histológico	Tamaño	Grado	TNM	Estadio	3p14	3p21	3p25
7	CC	50	4	T3b N2	IV	2	2	3
10	CC	68	2	T1b N0	I	2	1	3

Un 20,7% presentaron LOH en 3p 25 y todos fueron varones. Además el 20% de los pacientes que presentaban antecedentes familiares de cáncer y el 25% de los que habían presentado antecedentes neoplásicos tenían LOH en 3p25. El 12,5% de los pacientes sintomáticos así como el 17,6% de los pacientes con diagnóstico incidental presentaban dicha alteración (p=0,86). (Tabla XXXII).

Un aspecto muy importante con repercusión quirúrgica es la multifocalidad (Tabla XXXII); en este sentido, el 16,7% de los tumores multifocales y el 14,3% de los tumores sin multifocalidad tenían LOH en 3p25 ( $p=0,72$ ). No encontramos asociación estadísticamente significativa entre la pérdida de heterocigosidad con las variables clínicas HTA y tabaco ( $p=0,24$  y  $p=0,96$  respectivamente). (Tabla XXXII).

**Tabla XXXII.** Relación LOH en 3p25 con las variables clínico-patológicas. Serie de 41 pacientes sometidos a nefrectomía. Hospital Clínico San Carlos de Madrid (1993 – 2010).

VARIABLE	PREVALENCIA LOH 3p25 n(%)	INESTABILIDAD n(%)	P
<u>SEXO</u>			
Varón	6/29 (20,7)	1/29 (3,4)	0,09
Mujer	0/12 (0)	1/12 (8,3)	
<u>ANTECEDENTES FAMILIARES</u>			
Si	5/25 (20)	2/25 (8)	0,08
No	0/9 (0)	0/9 (0)	
<u>ANTECEDENTES NEOPLÁSICOS</u>			
Si	1/4 (25)	0/4 (0)	0,70
No	5/37 (13,5)	2/37 (5,4)	
<u>DCO</u>			
Sintomático	3/24 (12,5)	1/24 (4,2)	0,86
Indicental	3/17 (17,6)	1/17 (5,9)	
<u>HTA</u>			
Si	3/16 (18,8)	0/16 (0)	0,24
No	2/23 (8,7)	2/23 (8,7)	
<u>TABACO</u>			
Si	3/21 (14,3)	1/21 (4,8)	0,96
No	2/17 (14,3)	1/17 (5,9)	
<u>MULTIFOCALIDAD</u>			
Si	1/6 (16,7)	0/6 (0)	0,72
No	5/35 (14,3)	2/35 (5,7)	

---

#### 1.4.2 Relación con los factores pronósticos-clásicos.

En la tabla XXXIII describimos la relación de la pérdida de heterocigosidad en la región 3p25 y la inestabilidad microsatélite en dicha región, comparadas con los factores pronósticos clásicos.

En relación con la LOH en 3p25 hemos observado que en cuanto al tipo histológico, solo encontramos LOH en los CCR de células claras (6/29 – 20,7%). No detectamos LOH en 3p25, en otros tipos histológicos ( $p=0,61$ ). (Tabla XXXIII).

En cuanto al grado de diferenciación nuclear, el 14,3% de los tumores grado 1, el 18,2% de los grado 2 y el 11,1% de los grado 3 presentaban pérdida de heterocigosidad en 3p25 ( $p=0,24$ ). (Tabla XXXIII). Al agrupar los grados de diferenciación nuclear, el 17,2% de los tumores de bajo grado (grado 1 y 2) y el 10% de los tumores de alto grado (grado 3 y 4) presentaban alteración en 3p25 ( $p=0,66$ ). (Tabla XXXIII).

En la Tabla XXXIII puede verse que detectamos LOH en 3p25 en el 15,4% de los tumores pT1a, en el 22,2% de los pT1b, en el 14,3% de los de los pT3a y en el 12,5% de los tumores pT3b ( $p=0,80$ ).

Por último, analizamos el estadio. El 18,2% de los tumores en estadio I y el 14,3% en estadio III, tenían dicha alteración cromosómica ( $p=0,20$ ). (Tabla XXXIII).

**Tabla XXXIII.** Relación LOH en 3p25 con los factores pronósticos-clásicos. Serie de 41 pacientes sometidos a nefrectomía. Hospital Clínico San Carlos de Madrid (1993 – 2010).

VARIABLE	PREVALENCIA LOH 3p25 n(%)	INESTABILIDAD n(%)	p
<u>TIPO HISTOLÓGICO</u>			
CCR cc	6/29 (20,7)	2/29 (6,9)	0,61
CCR Papilar	0/5 (0)	0/5 (0)	
CCR Cromóforo	0/1 (0)	0/1 (0)	
Oncocitomas	0/2 (0)	0/2 (0)	
CCR Bellini	0/4 (0)	0/4 (0)	
<u>GRADO NUCLEAR</u>			
1	1/7 (14,3)	0/7 (0)	0,24
2	4/22 (18,2)	1/22 (4,5)	
3	1/9 (11,1)	0/9 (0)	
4	0/1 (0)	1/1 (100)	
<u>GRADO NUCLEAR AGRUPADO</u>			
1-2	5/29 (17,2)	1/29 (3,4)	0,66
3-4	1/10 (10)	1/10 (10)	
<u>CATEGORÍA pT</u>			
pT1a	2/13 (15,4)	0/13 (0)	0,80
pT1b	2/9 (22,2)	1/9 (11,1)	
pT2	0/2 (0)	0/2 (0)	
pT3a	1/7 (14,3)	0/7 (0)	
pT3b	1/8 (12,5)	1/8 (12,5)	
<u>ESTADIO</u>			
I	4/22 (18,2)	1/22 (4,5)	0,20
II	0/2 (0)	0/2 (0)	
III	2/14 (14,3)	0/14 (0)	
IV	0/1 (0)	1/1 (100)	

### 1.4.3 Relación con variables post-operatorias.

En la tabla XXXIV describimos la relación de la pérdida de heterocigosidad en la región 3p25 y la inestabilidad microsatélite en dicha región, con las variables de evolución post-operatoria.

No encontramos LOH en 3p25, en ninguno de los pacientes que presentaron recidiva local y encontramos LOH en 3p25 en el 41,7% de los que no presentaron recidiva local ( $p=0,19$ ). El 12,5% de los pacientes que presentaron metástasis tenían LOH en 3p25 y el 15,2% de los que no presentaron metástasis ( $p=0,61$ ). No existía LOH en 3p25 en ninguno de los pacientes que fallecieron a causa de su CCR, ni en los pacientes que fallecieron por otras causas. Además encontramos LOH en 3p25 en el 19,4% de los pacientes que se encontraban libres de enfermedad ( $p=0,23$ ). (Tabla XXXIV).

**Tabla XXXIV.** Relación LOH en 3p25 con las variables de evolución postoperatoria. Serie de 41 pacientes sometidos a nefrectomía. Hospital Clínico San Carlos de Madrid (1993 – 2010).

VARIABLE	PREVALENCIA LOH 3p25 n(%)	INESTABILIDAD n(%)	p
<u>RECIDIVA LOCAL</u>			
SI	0/4 (0)	1/4 (25)	0,19
No	6/37 (16,2)	1/37 (2,7)	
<u>METÁSTASIS</u>			
Si	1/8 (12,5)	1/8 (12,5)	0,61
No	5/33 (15,2)	1/33 (3)	
<u>ÉXITUS CCR</u>			
CCR	0/5 (0)	1/5 (20)	0,23
Otras causas	0/5 (0)	1/31 (3,2)	
Libres de enfermedad	6/31 (19,4)	0/5 (0)	

---

## 2. Correlación con el tipo histopatológico

En nuestra serie (18/41 – 43,9%) detectamos LOH y/o inestabilidad cromosómica en 3p. En 23/41 (56,1%) no encontramos ninguna de estas alteraciones, que se distribuían de la siguiente forma: 13 CCRcc, 5 CCR papilares, 1 CCR cromóforo, 2 CCR de los ductos colectores de Bellini y 2 oncocitomas.

De los 18 pacientes con LOH en 3p, 16 casos correspondían a CCRcc y 2 casos a CCR de los ductos colectores (Bellini), es decir que solo encontramos pérdida de la heterocigosidad en 2 tipos histológicos.

Considerando los CCR de células claras, 16 de los 29 casos (55,17%) mostraron LOH a nivel del 3p en alguno de los marcadores analizados. Al estudiar CCR de los ductos colectores, 2 de los 4 casos (50%) tenían dicha alteración. Si realizamos una comparación de proporciones entre el porcentaje de LOH en los grupos de CCR de células claras (55,17%) y CCR de los ductos colectores (50%) y el porcentaje de LOH en el grupo restante (0%), comprobamos que existe una asociación estadísticamente significativa entre los CCR de células claras y los CCR de los ductos colectores y la presencia de LOH en 3p ( $p=0,024$ ) (Tabla XXXV).



**Tabla XXXV.** Relación de contingencia entre las variables “Tipo histológico” y “LOH” ( $p=0,024$ )

TIPO HISTOLÓGICO	LOH	NO LOH/NI	TOTAL
CCR convencional	16 (55,17%)	13 (44,82%)	29
CCR papilar	0	5 (100%)	5
CCR cromóforo	0	1 (100%)	1
CCR de Bellini	2 (50%)	2 (50%)	4
Oncocitomas	0	2 (100%)	2
<b>Total</b>	<b>18</b>	<b>23</b>	<b>41</b>

## 2.1 Estudio de los CCR de células claras y su pérdida de heterocigosidad en las regiones 3p14, 3p21 y 3p25.

Considerando solo los CCR de células claras, 16 de los 29 casos (55,17%) mostraron LOH a nivel del 3p en alguno de los 3 marcadores de microsatélites.

---

### **2.1.1 Estudio de los CCR de células claras y la pérdida de heterocigosidad en la región 3p14.**

El 10,8% (3 pacientes) de los 29 pacientes diagnosticados CCRcc presentaron pérdida de heterocigosidad en 3p14.1-14.3 y 1 paciente (2,4%) fue no informativo en el estudio de la pérdida de heterocigosidad en 3p14 en el microsatélite D3S1228. Los tres pacientes son los mismos descritos que en el apartado 1.2.

### **2.1.2 Estudio de los CCR de células claras y la pérdida de heterocigosidad en la región 3p21.**

#### **2.1.2.1 Relación con las variables clínico-patológicas.**

En la tabla XXXVI presentamos la relación de la pérdida de heterocigosidad en la región 3p21.2-21.3 con las variables clínico-patológicas de los 29 CCRcc de la serie.

El 42,9% de los hombres y el 62,5% de las mujeres con CCRcc presentaban pérdida de heterocigosidad en 3p21.2-21.3 ( $p=0,34$ ). (Tabla XXXVI). El 50% de los pacientes que presentaban antecedentes familiares de cáncer y el 75% de los que habían presentado antecedentes neoplásicos tenían alteraciones genéticas en 3p21. El 43,8% de los pacientes sintomáticos

así como el 53,1% de los pacientes con diagnóstico incidental presentaban dicha alteración ( $p=0,59$ ). (Tabla XXXVI).

El 33,3% de los tumores multifocales y el 50% de los tumores sin multifocalidad tenían LOH en 3p21 ( $p=0,58$ ). No encontramos asociación estadísticamente significativa entre la pérdida de heterocigosidad con las variables clínicas HTA y tabaco ( $p=0,59$  y  $p=0,18$  respectivamente).

**Tabla XXXVI.** Relación LOH en 3p21.2-21.3 con las variables clínico-patológicas en los 29 CCRcc de la serie. Hospital Clínico San Carlos de Madrid (1993 – 2010).

VARIABLE	PREVALENCIA LOH %	PREVALENCIA LOH n	p
<u>SEXO</u>			
Varón	42,9	9/21	0,34
Mujer	62,5	5/8	
<u>ANTECEDENTES FAMILIARES</u>			
Si	50	9/18	1
No	50	3/6	
<u>ANTECEDENTES NEOPLÁSICOS</u>			
Si	75	3/4	0,24
No	44	11/25	
<u>DCO</u>			
Sintomático	43,8	7/16	0,59
Indicental	53,8	7/13	
<u>HTA</u>			
Si	55,6	5/9	0,59
No	44,4	8/18	
<u>TABACO</u>			
Si	35,7	5/14	0,18
No	61,5	8/13	
<u>MULTIFOCALIDAD</u>			
Si	33,3	1/3	0,58
No	50	13/26	

---

### 2.1.2.2 Relación con los factores pronóstico-clásicos

En la tabla XXXVII presentamos la relación de la pérdida de heterocigosidad en la región 3p21.2-21.3 con los factores pronósticos clásicos de los 29 CCRcc de la serie.

Respecto a la LOH en 3p21 en los CCRcc y su grado de diferenciación nuclear, el 57,1% de los grado 1, el 43,8% de los grado 2 y el 60% de los grado 3 presentaban pérdida de heterocigosidad en 3p21 ( $p=0,58$ ). (Tabla XXXVII). Al agrupar por grados de diferenciación nuclear, el 47,8% de los tumores de bajo grado (grado 1 y 2) y el 50% de los tumores de alto grado (grado 3 y 4) presentaban alteración en 3p21 ( $p=0,92$ ). (Tabla XXXVII).

Encontramos LOH en 3p21.2-21.3 en los CCRcc en el 45,5% de los tumores pT1a, en el 50% de los pT1b, en el 60% de los de los pT3a y en el 42,9% de los tumores pT3b ( $p=0,94$ ). (Tabla XXXVII)

El 47,1% de los tumores en estadio I y el 54,5% en estadio III, tenían LOH en 3p21( $p=0,47$ ). (Tabla XXXVII).

**Tabla XXXVII.** Relación LOH en 3p21.2-21.3 con los factores pronósticos clásicos en los 29 CCRcc de la serie. Hospital Clínico San Carlos de Madrid (1993 – 2010).

VARIABLE	PREVALENCIA LOH %	PREVALENCIA LOH n	p
<u>GRADO NUCLEAR</u>			
1	57,1	4/7	0,58
2	43,8	7/16	
3	60	3/5	
4	0	0/1	
<u>GRADO NUCLEAR AGRUPADO</u>			
1-2	47,8	11/23	0,92
3-4	50	3/6	
<u>CATEGORÍA pT</u>			
pT1a	45,5	5/11	0,94
pT1b	50	3/6	
pT2	-	-	
pT3a	60	3/5	
pT3b	42,9	3/7	
<u>ESTADIO</u>			
I	47,1	8/17	0,47
II	-	-	
III	54,5	6/11	
IV	0	0/1	

### 2.1.2.3 Relación con variables post-operatorias.

Presentaban LOH en 3p21.2-21.3, en 1 de los 2 pacientes (50%) que presentaron recidiva local y en el 48,1% de los que no presentaron recidiva ( $p=0,96$ ). (Tabla XXXVIII). El 28,6% de los pacientes que presentaron metástasis tenían LOH en 3p21 y el 54,5% de los que no presentaron metástasis ( $p=0,22$ ). (Tabla XXXVIII). Presentaron LOH en 3p21 el 25% de los pacientes que fallecieron a causa de su CCR, así como el 50% de los

pacientes que fallecieron por otras causas y el 52,2% de los pacientes que se encontraban libres de enfermedad ( $p=0,59$ ). (Tabla XXXVIII).

**Tabla XXXVIII.** Relación LOH en 3p21.2-21.3 con las variables post-operatorias en los 29 CCRcc de la serie. Hospital Clínico San Carlos de Madrid (1993 – 2010).

VARIABLES	PREVALENCIA LOH %	PREVALENCIA LOH n	p
<u>RECIDIVA LOCAL</u>			
SI	50	1/2	0,96
No	48,1	13/27	
<u>METÁSTASIS</u>			
Si	28,6	2/7	0,22
No	54,5	12/22	
<u>ÉXITUS CCR</u>			
CCR	25	1/4	0,59
Otras causas	50	1/2	
Libres de enfermedad	52,2	12/23	

### 2.1.3 Estudio de los CCR de células claras y su pérdida de heterocigosidad en la región 3p25.

#### 2.1.3.1 Relación con las variables clínico-patológicas.

En la tabla XXXIX presentamos la relación de la pérdida de heterocigosidad en la región 3p25 y la inestabilidad microsatélite en dicha región, con las variables clínico-patológicas en los 29 CCRcc de la serie.

---

Todos los pacientes que presentaron LOH en 3p25 fueron varones, de los cuales el 28,6% presentaban dicha LOH. El 27,8% de los pacientes que presentaban antecedentes familiares de cáncer y el 25% de los que habían presentado antecedentes neoplásicos tenían LOH en 3p25. El 18,8% de los pacientes sintomáticos así como el 23,1% de los pacientes con diagnóstico incidental presentaban dicha alteración ( $p=0,94$ ).

Uno de tres (33,3%) de los CCRcc multifocales y el 14,3% de los tumores sin multifocalidad tenían LOH en 3p25 ( $p=0,71$ ). (Tabla XXXIX). No encontramos asociación estadísticamente significativa entre la pérdida de heterocigosidad con las variables clínicas HTA y tabaco ( $p=0,20$  y  $p=0,92$  respectivamente). (Tabla XXXIX).

**Tabla XXXIX.** Relación LOH en 3p25 con las variables clínico-patológicas en los 29 CCRcc de la serie. Hospital Clínico San Carlos de Madrid (1993 – 2010).

VARIABLE	PREVALENCIA LOH 3p25 n(%)	INESTABILIDAD n(%)	P
<u>SEXO</u>			
Varón	6/21 (28,6)	1/21 (4,8)	0,10
Mujer	0/8 (0)	1/8 (12,5)	
<u>ANTECEDENTES FAMILIARES</u>			
Si	5/18 (27,8)	2/18 (11,1)	0,09
No	0/6 (0)	0/6 (0)	
<u>ANTECEDENTES NEOPLÁSICOS</u>			
Si	1/4 (25)	0/4 (0)	0,73
No	5/25 (20)	2/25 (8)	
<u>DCO</u>			
Sintomático	3/16 (18,8)	1/16 (6,2)	0,94
Indicental	3/13 (23,1)	1/13 (7,7)	
<u>HTA</u>			
Si	3/9 (33,3)	0/9 (0)	0,20
No	2/18 (11,1)	2/18 (11,1)	
<u>TABACO</u>			
Si	3/14 (21,4)	1/14 (7,1)	0,92
No	2/13 (15,4)	1/13 (7,7)	
<u>MULTIFOCALIDAD</u>			
Si	1/3 (33,3)	0/3 (0)	0,71
No	5/26 (19,2)	2/26 (7,7)	

### 2.1.3.2 Relación con los factores pronósticos-clásicos.

En la tabla XL describimos la relación de la pérdida de heterocigosidad en la región 3p25 y la inestabilidad cromosómica en dicha región, con los factores pronósticos clásicos en los 29 CCRcc de la serie.



---

En relación al grado de diferenciación nuclear, el 14,3% de los CCRcc grado 1, el 25% de los grado 2 y el 20% de los grado 3 presentaban pérdida de heterocigosidad en 3p25 ( $p=0,27$ ). Al agrupar por grados de diferenciación nuclear, el 21,7% de los tumores de bajo grado (grado 1 y 2) y el 16,7% de los tumores de alto grado (grado 3 y 4) presentaban alteración en 3p25 ( $p=0,62$ ). (Tabla XL).

Respecto a la LOH en 3p25 encontramos en el 18,2% de los CCRcc pT1a, en el 33,3% de los pT1b, en el 20% de los de los pT3a y en el 14,3% de los tumores pT3b ( $p=0,62$ ). (Tabla XL).

El 23,5% de los tumores en estadio I y el 18,2% en estadio III, tenían dicha alteración cromosómica ( $p=0,13$ ). (Tabla XL).

**Tabla XL.** Relación LOH en 3p25 con los factores pronósticos clásicos en los 29 CCRcc de la serie. Hospital Clínico San Carlos de Madrid (1993 – 2010).

VARIABLE	PREVALENCIA LOH 3p25 n(%)	INESTABILIDAD n(%)	p
<u>GRADO NUCLEAR</u>			
1	1/7 (14,3)	0/7 (0)	0,27
2	4/16 (25)	1/16 (6,3)	
3	1/5 (20)	0/5 (0)	
4	0/1 (0)	1/1 (100)	
<u>GRADO NUCLEAR AGRUPADO</u>			
1-2	5/23 (21,7)	1/23 (4,3)	0,62
3-4	1/6 (16,7)	1/6 (16,7)	
<u>CATEGORÍA pT</u>			
pT1a	2/11 (18,2)	0/11 (0)	0,62
pT1b	2/6 (33,3)	1/6 (16,7)	
pT2	-	-	
pT3a	1/5 (20)	0/5 (0)	
pT3b	1/7 (14,3)	1/7 (14,3)	
<u>ESTADIO</u>			
I	4/17 (23,5)	1/17 (5,9)	0,13
II	-	-	
III	2/11 (18,2)	0/11 (0)	
IV	0/1 (0)	1/1 (100)	

### 2.1.3.3 Relación con variables de evolución post-operatorias.

En la tabla XLI presentamos la relación de la pérdida de heterocigosidad en la región 3p25 con las variables de evolución post-operatoria en los 29 CCRcc de la serie.

No encontramos LOH en 3p25, en ninguno de los CCRcc que presentaron recidiva local y encontramos LOH en 3p25 en el 22,2% de los que no presentaron recidiva local ( $p=0,15$ ). (Tabla XLI). El 14,3% de los pacientes que presentaron metástasis tenían LOH en 3p25 y el 22,7% de los que no presentaron metástasis ( $p=0,66$ ). (Tabla XLI). No existía LOH en 3p25 en ninguno de los pacientes con CCRcc que fallecieron a causa de su CCR, ni en los pacientes con CCRcc que fallecieron por otras causas, encontramos LOH en 3p25 en el 19,4% de los pacientes CCRcc que se encontraban libres de enfermedad al final del estudio ( $p=0,32$ ).

**Tabla XLI.** Relación LOH en 3p25 con las variables post-operatorias en 29 los CCRcc de la serie. Hospital Clínico San Carlos de Madrid (1993 – 2010).

VARIABLE	PREVALENCIA LOH 3p25 n(%)	INESTABILIDAD n(%)	p
<u>RECIDIVA LOCAL</u>			
SI	0/2 (0)	1/2 (50)	0,15
No	6/27 (22,2)	1/27 (3,7)	
<u>METÁSTASIS</u>			
Si	1/7 (14,3)	1/7 (14,3)	0,66
No	5/22 (22,7)	1/22 (4,5)	
<u>ÉXITUS CCR</u>			
CCR	0/4 (0)	1/4 (25)	0,32
Otras causas	0/2 (0)	0/2 (0)	
Libres de enfermedad	6/23 (26,1)	1/23 (4,3)	

---

## **2.2 Estudio de los CCR de túbulo colectores (Bellini) y su pérdida de heterocigosidad en las regiones 3p14, 3p21 y 3p25.**

En nuestra serie 4 pacientes con CCR de los ductos colectores de Bellini, de los cuales 2 (50%) presentaron pérdida de heterocigosidad únicamente en un marcador microsatélite que fue el D3S1029 en 3p21.2-21.3.

Debido a que el tamaño muestral fue pequeño, no realizamos un estudio estadístico de estos pacientes con las diferentes variables clínico-patológicas y los factores pronósticos clásicos. A continuación describiremos las características de estos pacientes. (Tabla XLII).

El primer paciente era un varón de 58 años de edad, obeso, fumador e hipertenso sin antecedentes familiares de cáncer y su diagnóstico fue incidental. La masa del tumor en la ecografía era mixta en el riñón izquierdo. Intervenido en Noviembre 1996, el tumor tenía 110 mm de tamaño y se trató de un tumor con un grado 2 de diferenciación y no presentaba multifocalidad. Según el TNM, fue un T2 No (estadio tumoral II). No presento recidiva, ni metástasis. Falleció a los 10 años de la cirugía en el posoperatorio de un Ca Neuroendocrino a 20 cm del margen anal. Este paciente presentaba LOH en 3p21.2-21.3.

El siguiente paciente era una mujer de 37 años de edad, fumadora, con antecedentes familiares de cáncer y su diagnóstico fue sintomático. Intervenida

---

en Febrero de 1997, el tumor era sólido localizado en el riñón izquierdo y con un tamaño de 100 mm. Se trataba de un tumor grado 2 (T2 No, estadio II) y sin multifocalidad. No presenta recidiva y permanece viva hasta el final del estudio. No presentaba LOH en ninguno de los marcadores.

El tercer paciente fue otro varón de 49 años fumador con antecedentes familiares de cáncer y el diagnóstico fue sintomático. Intervenido en Febrero de 1998, el informe de anatomía patológica describe un tumor sólido de 90 mm con un grado 2 de diferenciación nuclear. Según el TNM, era un T1b No, estadio I. Presento recidiva a los 2 y 4 años de la intervención. No ha presentado metástasis y permanece vivo en el momento de cerrar el estudio.

La cuarta paciente era una mujer de 55 años hipertensa con antecedentes familiares de cáncer cuyo diagnóstico fue sintomático. Intervenida en Febrero de 1998, el tumor tenía 95 mm de tamaño y se trató de un tumor con un grado 3 de Fuhrman y no presentaba multifocalidad. Según el TNM, fue un T3b No (estadio tumoral III). Presentó recidiva local a los 5 meses de la intervención y se le diagnosticaron metástasis cerebrales y vertebrales a los 8 meses de la cirugía. La paciente falleció a los 15 meses de la cirugía. Esta paciente presentaba LOH en 3p21.2-21.3.

**Tabla XLII.** Descripción de las características tumorales y LOH de los pacientes con CCR de los ductos colectores (Bellini) en la serie de 41 pacientes sometidos a Nefrectomía por tumor renal en el Hospital Clínico San Carlos (1993-2010).

Tumor	Tipo histológico <sup>A</sup>	Tamaño	Grado <sup>B</sup>	TNM <sup>C</sup>	Estadio <sup>C</sup>	3p14 <sup>D</sup>	3p21 <sup>D</sup>	3p25 <sup>D</sup>
21	Bellini	110	2	T2 N0	II	2	1	2
26	Bellini	100	2	T2 N0	II	2	2	2
38	Bellini	50	2	T1b N0	I	2	2	2
41	Bellini	95	3	T3b N0	III	2	1	2

### 3. Mapa de deleciones en los CCR con LOH en 3p

Como ya hemos descrito previamente solo se encontraron LOH en 3p en 16 de los 29 CCR de células claras (55,17%) y en 2 de los 4 CCR de los ductos colectores de Bellini (50%).

El mapa de deleciones fue el siguiente y puede observarse en la tabla XLIII.

En este sentido, en los CCR de células claras encontramos en 3 pacientes (18,75%) LOH en los 3 microsatélites analizados (D3S1228, D3S1029 y D3S1038), en 2 pacientes (12,5%) se encontró LOH en D3S1029 y D3S1038, y 1 paciente (6,25%) LOH en D3S1038.

En 8 pacientes (50%) con CCRcc se encontró LOH únicamente en el microsatélite (D3S1029).

Un paciente (6,25%) tenía LOH en D3S1029 e inestabilidad en D3S1038 y un paciente (6,25%) presentó únicamente inestabilidad en D3S1038.

En los CCR de los ductos colectores de Bellini, 2 pacientes 50% presentaron LOH en D3S1029 y presentaron retención de la heterocigosidad en los otros marcadores microsatélites D3S1228 y D3S1038.

**Tabla XLIII.** Resultados del análisis de microsatélites para la pérdida de heterocigosidad en los 3 locus del 3p estudiados en 41 pacientes diagnosticados de tumores renales.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
D3S1228	✗	✗	✗	✗	✗	✗	✗	✗	✗	✗	✗	✗	✗	✗
D3S1029	➤	✗	✗	➤	➤	✗	✗	➤	➤	➤	➤	✗	✗	✗
D3S1038	➤	✗	✗	✗	✗	✗	ⓘ	✗	✗	ⓘ	✗	✗	✗	✗

	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28
D3S1228	➤	Ⓢ	✗	✗	✗	✗	✗	✗	✗	✗	✗	✗	✗	✗
D3S1029	➤	✗	➤	✗	✗	✗	➤	✗	✗	✗	✗	✗	➤	➤
D3S1038	➤	✗	➤	✗	✗	✗	✗	✗	✗	✗	✗	✗	✗	✗

	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41
D3S1228	✗	➤	✗	✗	✗	✗	✗	➤	✗	✗	✗	✗	✗
D3S1029	➤	➤	✗	✗	✗	✗	✗	➤	✗	✗	✗	✗	➤
D3S1038	✗	➤	➤	✗	✗	✗	✗	➤	✗	✗	✗	✗	✗

➤ Pérdida de heterocigosidad; ✗ Retención de la heterocigosidad; ⓘ Inestabilidad; Ⓢ No informativo.

---

## **EVOLUCIÓN POSTOPERATORIA DE LOS PACIENTES CON TUMORES RENALES. ANÁLISIS DE LA INFLUENCIA PRONÓSTICA.**

La mediana de seguimiento de la cohorte fue de 145 meses (RIC 80-164 meses). No fue posible realizar el seguimiento en un paciente después de la cirugía.

Del total de pacientes del grupo, fallecieron 10 pacientes (24,4%). De los cuales 5 fallecieron por la evolución de su CCR, 3 fallecieron como consecuencia de complicaciones en el postoperatorio de otros tumores (un tumor neurooendocrino a 20 cm del margen anal, otro con un carcinoma suprarrenal izquierdo con infiltración pancreática y otro por un CCR de células claras asincrónico en el riñón contralateral Grado 3 de Furhman estadio pT4), otro paciente falleció de una hemorragia cerebral y otro CCRcc por sepsis.

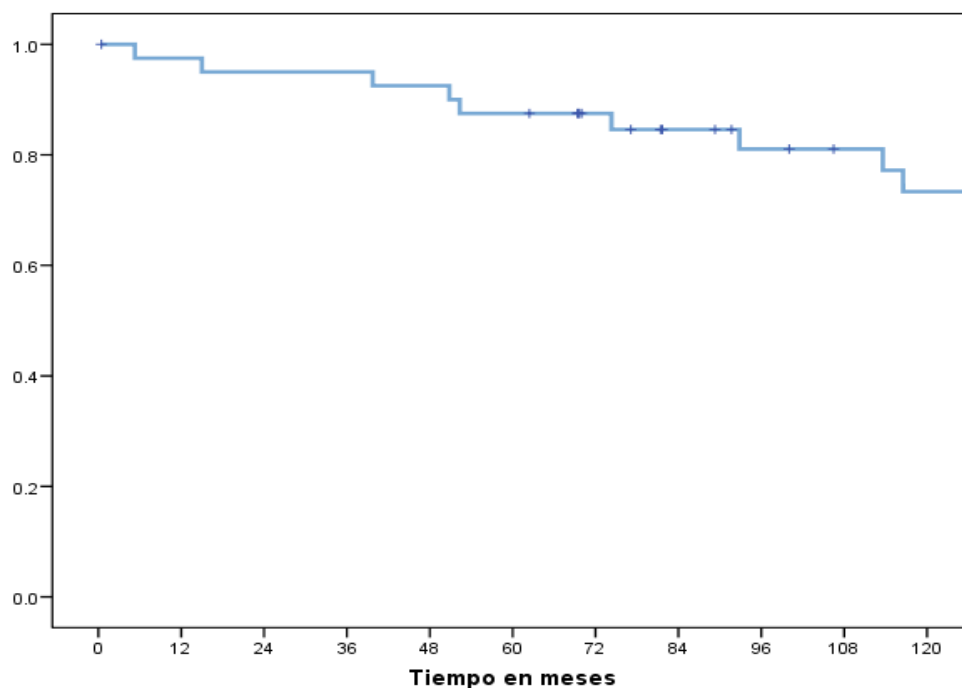
Durante el seguimiento se detectaron cuatro recidivas locales (9,8%) que se descubrieron en tres pacientes que posteriormente fallecieron y el otro paciente ha sido intervenido en dos ocasiones de recidiva local.

Se descubrieron metástasis a distancia en 8 pacientes (19,5%).



## 1. Analisis univariable de la probabilidad acumulada de supervivencia global de los pacientes con tumores renales en relación con las variables clínico-patológicas, los factores pronósticos clásicos y la LOH en 3p.

En nuestra serie la S.G. a los 36 meses era de un 94,9%, del 87,2% a los 60 meses (5 años) y del 72,5% a los 120 meses (10 años) (Figura 21).



**Figura 21.** Supervivencia acumulada global de la serie de 41 pacientes sometidos a nefrectomía. Hospital Clínico San Carlos de Madrid. (1993-2010).

Del total de pacientes del grupo, fallecieron 10 pacientes (24,4%). De los cuales 5 fallecieron por la evolución de su CCR, 3 fallecieron como consecuencia de complicaciones en el postoperatorio de otros tumores (un tumor neuroendocrino a 20 cm del margen anal, otro con un carcinoma suprarrenal izquierdo con infiltración pancreática y otro por un CCR de células

claras asincrónico en el riñón contralateral Grado 3 de Furhman estadio pT4), y otro paciente falleció de una hemorragia cerebral y otro CCRcc por sepsis.

**Tabla XLIV.** Descripción de las características tumorales y LOH de los pacientes fallecidos en la serie de 41 pacientes sometidos a Nefrectomía por tumor renal en el Hospital Clínico San Carlos (1993-2010).

Nº	Edad	Tipo celular <sup>A</sup>	Tam mm	Grado <sup>B</sup>	TNM <sup>C</sup>	Estadio <sup>C</sup>	3p14 <sup>D</sup>	3p21 <sup>D</sup>	3p25 <sup>D</sup>	Exitus
7	48	CCRcc	50	4	T3b N2	IV	2	2	3	Rec. Local Mtx Pulmón
8	76	CCRcc	60	3	T1b N0	I	2	1	2	T. Suprarrenal izq
9	67	CCRcc	60	2	T3b N0	III	2	1	2	Mtx Pulmón
12	70	Papilar	20	3	T1a N0	I	2	2	2	Hemorragia cerebral
20	71	CCRcc	85	2	T3b N0	III	2	2	2	Mtx Pulmón
21	68	Bellini	110	2	T2 N0	II	2	1	2	T. Neuroendocrino
22	77	CCRcc	50	2	T3b N0	III	2	2	2	Mtx Pulmón
29	87	CCRcc	45	2	T3a N0	III	2	1	2	Sepsis
35	73	CCRcc	20	2	T1a N0	I	2	2	2	CCRcc Grado 3 pT4
41	56	Bellini	95	3	T3b N0	III	2	1	2	Rec.Local Mtx cerebrales y vertebrales

<sup>A</sup> Tipos celulares según la clasificación de WHO (2004). <sup>B</sup> Grados de diferenciación nuclear de Furhman. <sup>C</sup> Clasificación TNM y estadio según la UICC y AJCC (edición 2002). <sup>D</sup> 1: Pérdida de heterocigosidad 2: Retención de la heterocigosidad 3: Inestabilidad.

En la tabla XLV se describe el análisis univariable de la supervivencia global en relación con las variables analizadas.

No se encontró ninguna asociación significativa entre las variables demográficas, diagnóstico, tamaño mayor o menor de 5 cm y la multifocalidad con la supervivencia global (SG).

**Tabla XLV:** Análisis univariable de la supervivencia global en relación con las variables clínico-patológicas. Serie de 41 pacientes sometidos a nefrectomía. Hospital Clínico San Carlos de Madrid (1993-2010).

VARIABLE	N	EVENTOS EXITUS	PROBABILIDAD ACUMULADA %			p
			36	60	120	
<u>SEXO</u>						
Varón	29	7	96,4	85,7	68,9	0,871
Mujer	11	3	90,9	90,9	80,8	
<u>DIAGNÓSTICO</u>						
Sintomático	24	5	90,9	86,4	79,7	0,594
Incidental	17	5	100	88,2	60,7	
<u>TAMAÑO</u>						
Mayor 5	24	7	91,7	83,3	66,8	0,375
Menor 5	16	3	100	93,3	81,7	
<u>MULTIFOCALIDAD</u>						
Si	6	0	100	100	100	0,181
No	34	10	93,9	84,8	68,0	

En la tabla XLVI describimos el análisis univariable de la supervivencia global en relación con los factores pronósticos clásicos (tipo celular, pT, estadio y grado nuclear).

Se encontró asociación estadísticamente significativa entre la supervivencia global y estadios y Categoría pT más avanzados ( $p=0,001$ ).

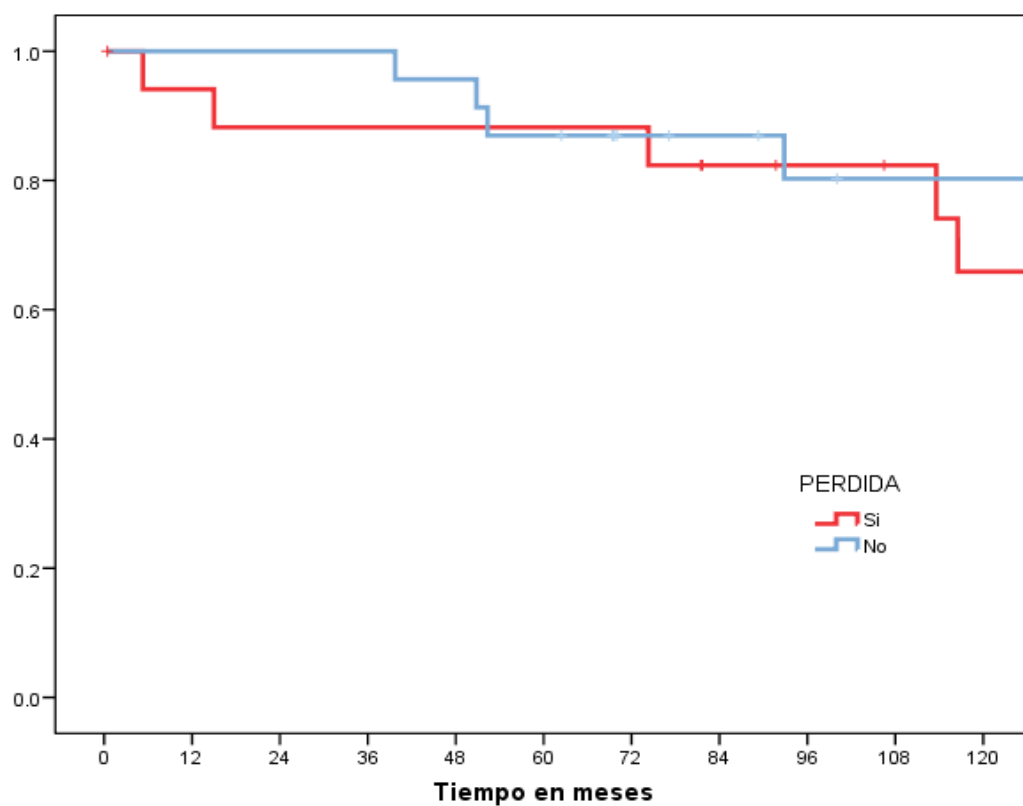
**Tabla XLVI.** Análisis univariable de la supervivencia global en relación con los factores pronósticos clásicos. Serie de 41 pacientes sometidos a nefrectomía. Hospital Clínico San Carlos de Madrid (1993-2010).

VARIABLE	N	EVENTOS EXITUS	PROBABILIDAD ACUMULADA %			p
			36	60	120	
<u>TIPO CELULAR</u>						
CCR cc	29	7	96,4	85,7	73,8	0,753
CCR Papilar	5	1	100	100	80,0	
CCR Cromóforo	1	0	100	100	100	
Oncocitoma	2	0	100	100	100	
CCR Bellini	4	2	75,0	75,0	50,0	
<u>pT 2002</u>						
pT1a	13	2	100	91,7	73,3	0,001
pT1b	9	1	100	100	85,7	
pT2	2	1	100	100	50,0	
pT3a	7	1	100	100	100	
pT3b	8	5	75,0	62,5	33,3	
<u>ESTADIO</u>						
I	22	3	100	95,2	79,9	0,000
II	2	1	100	100	50,0	
III	14	5	92,9	70,7	53,0	
IV	1	1	0	0	0	
<u>GRADO NUCLEAR</u>						
1-2	29	6	100	89,3	79,4	0,175
3-4	10	4	80,0	80,0	50,0	

En la tabla XLVII analizamos el análisis univariable de la supervivencia global en relación con la pérdida de heterocigosidad en brazo corto del cromosoma 3. No encontramos asociación estadísticamente significativa entre la supervivencia global y LOH en 3p14, 3p21 o 3p25.

**Tabla XLVII.** Análisis univariable de la supervivencia global en relación con la pérdida de heterocigosidad en el brazo corto del cromosoma 3. Serie de 41 pacientes sometidos a nefrectomía. Hospital Clínico San Carlos de Madrid (1993-2010).

VARIABLE	N	EVENTOS EXITUS	PROBABILIDAD ACUMULADA %			p
			36	60	120	
<u>3p14</u>						
Pérdida	3	0	100	100	100	0,455
No pérdida	37	10	94,4	86,1	70,8	
<u>3p21</u>						
Pérdida	16	5	93,3	93,3	69,3	0,881
No pérdida	25	5	95,8	83,3	76,4	
<u>3p25</u>						
Pérdida	6	0	100	100	100	0,134
No pérdida	23	9	96,9	87,5	69,4	
Inestabilidad	2	1	50,0	50,0	50,0	

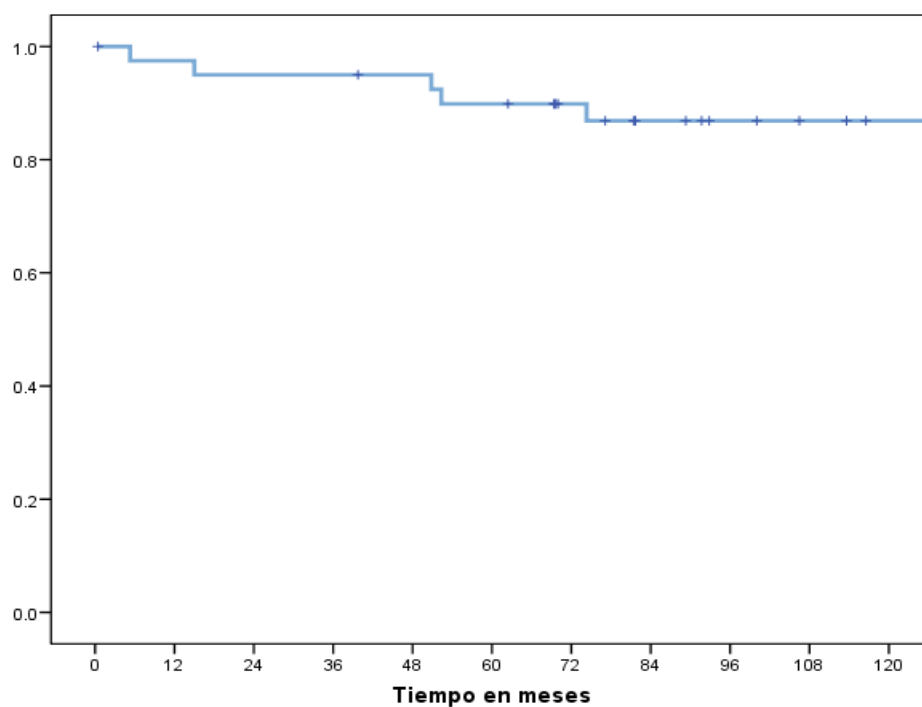


**Figura 22.** Supervivencia acumulada global comparada de pacientes con LOH en 3p y sin LOH en 3p de la serie de 41 pacientes sometidos a nefrectomía. Hospital Clínico San Carlos de Madrid. (1993-2010).

## 2. Analisis univariable de la probabilidad acumulada de supervivencia cáncer específica de los pacientes con tumores renales en relación con las variables clínico-patológicas, los factores pronósticos clásicos y la LOH en 3p.

En nuestra cohorte la S.C.E. a los 36 meses era de un 94,9%, del 89,6% a los 60 meses (5 años) y del 86,5% a los 120 meses (10 años) (figura 23).

El 50% de los pacientes que fallecieron por su CCR ocurrió a los 51 meses de la cirugía RIC (10-63 meses).



**Figura 23.** Supervivencia acumulada cáncer específica por el CCR de la serie de 41 pacientes sometidos a nefrectomía. Hospital Clínico San Carlos de Madrid. (1993-2010).

En la tabla XLVIII describimos el análisis univariable de la supervivencia cáncer específica en relación con las variables clínico-patológicas. No

encontramos en nuestra cohorte asociación estadísticamente significativa entre las variables clínico patológicas y la supervivencia cáncer específica aunque los tumores mayores o igual de 5 cm tenían peor supervivencia y tendían hacia la significación ( $p=0,079$ ).

**Tabla XLVIII.** Análisis univariable de la supervivencia cáncer específica en relación con las variables clínico-patológicas. Serie de 41 pacientes sometidos a nefrectomía. Hospital Clínico San Carlos de Madrid (1993-2010).

VARIABLE	N	EXITUS CCR	PROBABILIDAD ACUMULADA %			p
			36	60	120	
<u>SEXO</u>						
Varón	29	3	96,4	89,0	89,0	0,657
Mujer	12	2	90,9	90,9	80,8	
<u>DIAGNÓSTICO</u>						
Sintomático	24	3	90,9	86,4	86,4	0,723
Incidental	17	2	100	93,8	85,4	
<u>TAMAÑO</u>						
Mayor 5	24	5	91,7	83,3	78,9	0,079
Menor 5	16	0	100	100	100	
<u>MULTIFOCALIDAD</u>						
Si	6	0	100	100	100	0,324
No	34	5	93,9	87,7	84,0	

En la tabla XLIX podemos observar el análisis univariable de la supervivencia cáncer específica en relación con los factores pronósticos clásicos. Se encontró asociación estadísticamente significativa entre la supervivencia cáncer específica y las variables de categoría pT y el estadio tumoral ( $p<0,000$ ).

**Tabla XLIX.** Análisis univariable de la supervivencia cáncer específica en relación con los factores pronósticos clásicos. Serie de 41 pacientes sometidos a nefrectomía. Hospital Clínico San Carlos de Madrid (1993-2010).

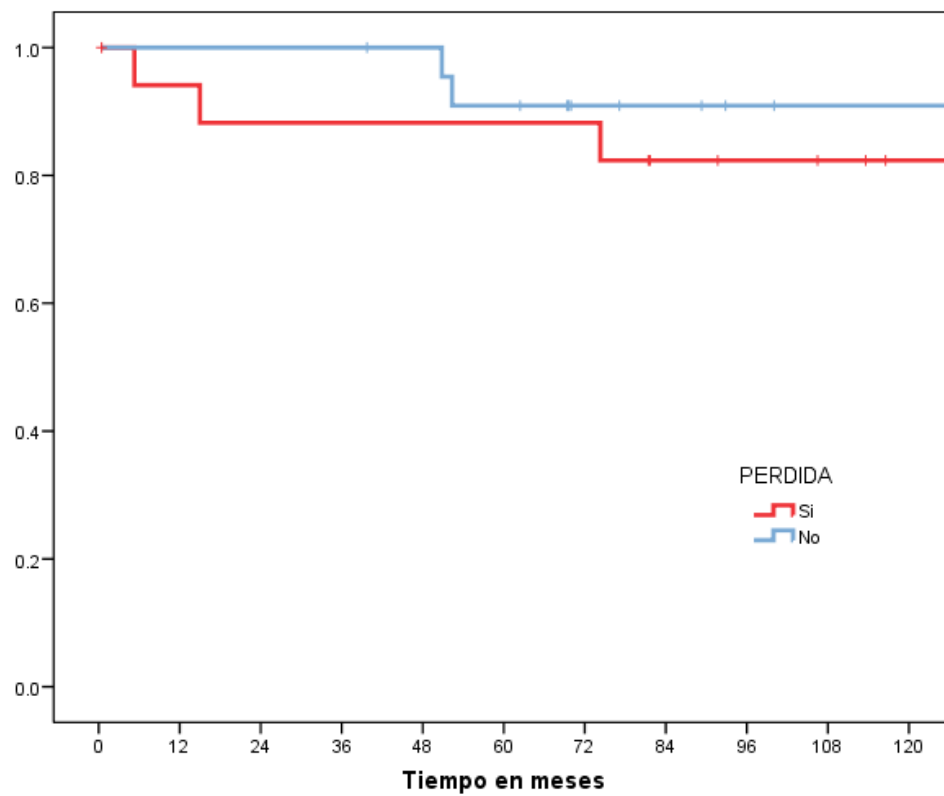
VARIABLE	N	EXITUS CCR	PROBABILIDAD ACUMULADA %			p
			36	60	120	
<u>TIPO CELULAR</u>						
CCR cc	29	4	96,4	89,0	84,3	0,780
CCR Papilar	5	0	100	100	100	
CCR Cromóforo	1	0	100	100	100	
Oncocitoma	2	0	100	100	100	
CCR Bellini	4	1	75,0	75,0	75,0	
<u>pT 2002</u>						
pT1a	13	0	100	100	100	0,000
pT1b	9	0	100	100	100	
pT2	2	0	100	100	100	
pT3a	7	0	100	100	100	
pT3b	8	5	75,0	50,0	33,3	
<u>ESTADIO</u>						
I	22	0	100	100	100	0,000
II	2	0	100	100	100	
III	14	4	92,9	78,6	70,7	
IV	1	1	0	0	0	
<u>GRADO NUCLEAR</u>						
1-2	29	3	100	92,6	88,2	0,320
3-4	10	2	80,0	80,0	80,0	

El análisis univariable de la supervivencia cáncer específica en relación con la pérdida de heterocigosidad en el brazo corto del cromosoma 3, queda reflejado en la tabla L. Se encontró una tendencia a la significación de los pacientes con LOH en 3p25 con mejor supervivencia cáncer específica que los que no presentaban LOH en 3p25 ( $p=0,056$ ). Con el resto de variables en relación con la LOH en el brazo corto del cromosoma 3 no se encontró asociación estadísticamente significativa.



**Tabla L.** Análisis univariable de la supervivencia cáncer específica en relación con la pérdida de heterocigosidad en el brazo corto del cromosoma 3. Serie de 41 pacientes sometidos a nefrectomía. Hospital Clínico San Carlos de Madrid (1993-2010).

VARIABLE	N	EXITUS CCR	PROBABILIDAD ACUMULADA %			p
			36	60	120	
<u>3p14</u>						
Pérdida	3	0	100	100	100	0,580
No pérdida	37	5	94,4	88,7	85,4	
<u>3p21</u>						
Pérdida	16	2	93,3	93,3	86,7	0,898
No pérdida	25	3	95,8	87,1	87,1	
<u>3p25</u>						
Pérdida	6	0	100	100	100	0,056
No pérdida	23	4	96,9	90,4	86,5	
Inestabilidad	2	1	50,0	50,0	50,0	
<u>ALGUNA LOH</u>						
Pérdida	18	3	88,2	82,4	82,4	0,500
No pérdida	23	2	100	90,0	90,0	



**Figura 24.** Supervivencia cáncer específica comparada de pacientes con LOH en 3p y sin LOH en 3p de la serie de 41 pacientes sometidos a nefrectomía. Hospital Clínico San Carlos de Madrid. (1993-2010).

### 3. Análisis univariable de la probabilidad acumulada de recidiva local de los pacientes con tumores renales en relación con las variables clínico patológicas, los factores pronósticos clásicos y la LOH en 3p.

El 50% de los pacientes con recidiva local presentaron dicha recidiva a los 19 meses con un RIC (4-54 meses).

En la tabla LI describimos el análisis univariable de la recidiva local en relación con las variables clínico-patológicas. Nuestros datos no evidencian asociación significativa entre las variables clínico-patológicas y la tasa acumulada de tiempo hasta la recidiva local.

**Tabla LI.** Análisis univariable de la recidiva local en relación con las variables clínico-patológicas. Serie de 41 pacientes sometidos a nefrectomía. Hospital Clínico San Carlos de Madrid (1993-2010).

VARIABLE	N	EVENTOS RECIDIVA LOCAL	PROBABILIDAD ACUMULADA %			p
			36	60	120	
<u>SEXO</u>						
Varón	29	2	92,9	92,9	92,9	0,438
Mujer	12	2	91,7	91,7	83,3	
<u>DIAGNÓSTICO</u>						
Sintomático	24	3	87	87	87	0,394
Incidental	17	1	100	100	93,3	
<u>TAMAÑO</u>						
Mayor 5	24	4	87,5	87,5	82,9	0,091
Menor 5	17	0	0	0	0	
<u>MULTIFOCALIDAD</u>						
Si	6	0	100	100	100	0,385
No	35	4	91,2	91,2	87,9	

En la tabla LII describimos el análisis univariable de la recidiva local en relación con los factores pronósticos clásicos. Presentaron una tendencia a la significación el tipo histológico pues solo se encontró recidiva local en los CCRcc y en los CCR de los ductos colectores de Bellini ( $p=0,053$ ). En nuestra cohorte encontramos que tanto la categoría pT como el estadio tuvieron una asociación estadísticamente significativa con la tasa acumulada de recidiva local ( $p=0,044$  y  $p<0,000$  respectivamente).

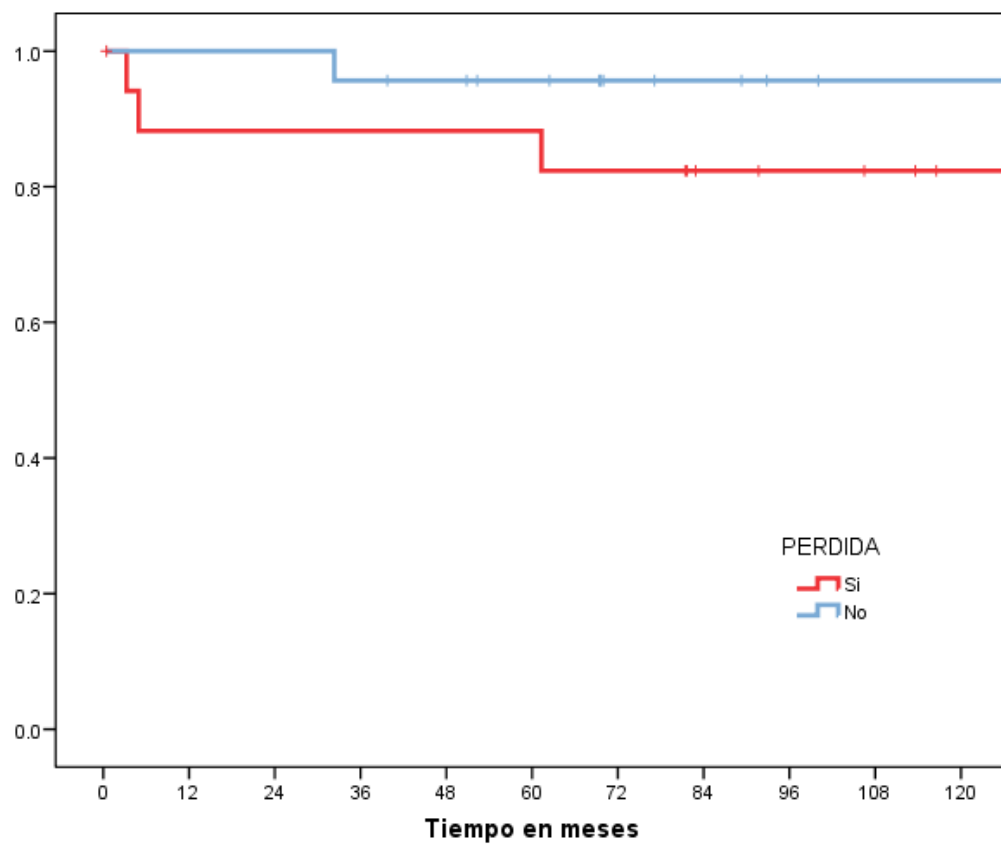
**Tabla LII.** Análisis univariable de la recidiva local en relación con los factores pronósticos clásicos. Serie de 41 pacientes sometidos a nefrectomía. Hospital Clínico San Carlos de Madrid (1993-2010).

VARIABLE	N	EVENTOS RECIDIVA LOCAL	PROBABILIDAD ACUMULADA %			p
			36	60	120	
<u>TIPO CELULAR</u>						
CCR cc	29	2	96,4	96,4	92,4	0,053
CCR Papilar	5	0	100	100	100	
CCR Cromóforo	1	0	100	100	100	
Oncocitoma	2	0	100	100	100	
CCR Bellini	4	2	50	50	50	
<u>pT 2002</u>						
pT1a	13	0	100	100	100	0,044
pT1b	9	1	100	88,9	88,9	
pT2	2	0	100	100	100	
pT3a	7	0	100	100	100	
pT3b	8	3	75	75	56,3	
<u>ESTADIO</u>						
I	22	1	95,2	95,2	95,2	0,000
II	2	0	100	100	100	
III	14	2	92,9	92,9	84,4	
IV	1	1	0	0	0	
<u>GRADO NUCLEAR</u>						
1-2	29	2	96,4	96,4	92,4	0,194
3-4	10	2	80	80	80	

La tabla LIII explica el análisis univariable de recidiva local en relación con la pérdida de heterocigosidad en el brazo corto del cromosoma 3. Los pacientes con LOH en 3p25 tenían una mayor probabilidad acumulada de estar libres de recidiva local que los que no tenían pérdida ( $p=0,03$ ). En el resto de variables de la LOH en 3p no se encontró ninguna asociación significativa.

**Tabla LIII.** Análisis univariable de recidiva local en relación con la pérdida de heterocigosidad en el brazo corto del cromosoma 3. Serie de 41 pacientes sometidos a nefrectomía. Hospital Clínico San Carlos de Madrid (1993-2010).

VARIABLE	N	EVENTOS RECIDIVA LOCAL	PROBABILIDAD ACUMULADA %			p
			36	60	120	
<u>3p14</u> Pérdida No pérdida	3 37	0 4	100 91,9	100 91,9	100 88,9	0,631
<u>3p21</u> Pérdida No pérdida	16 25	2 2	93,3 92,0	93,3 92,0	86,7 92,0	0,683
<u>3p25</u> Pérdida No pérdida Inestabilidad	6 23 2	0 3 1	100 93,9 50	100 93,9 50	100 90,6 50	0,030
<u>ALGUNA LOH</u> Pérdida No pérdida	18 23	3 1	88,2 95,6	88,2 95,6	82,4 95,5	0,197

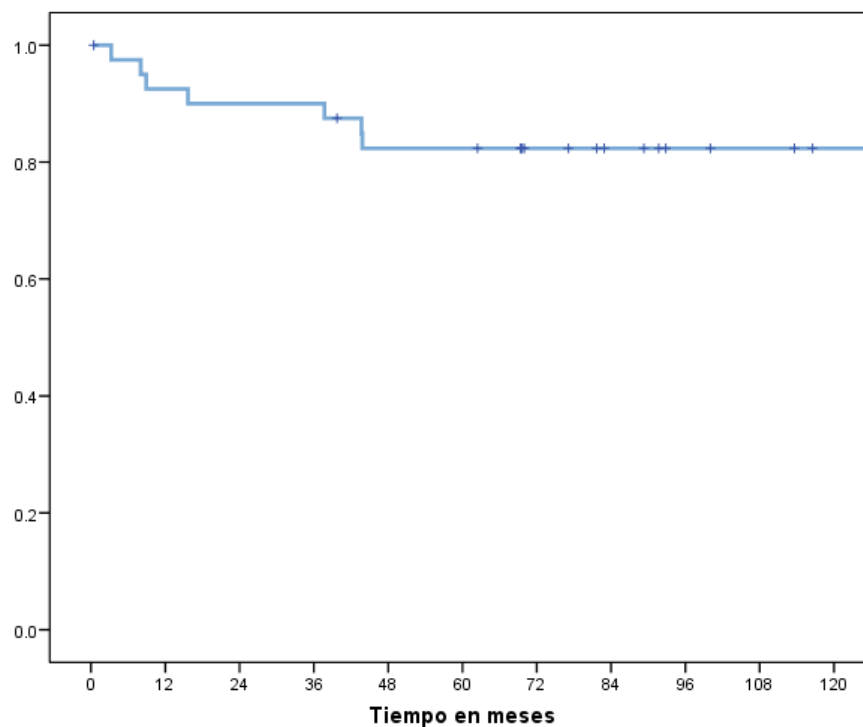


**Figura 25.** Supervivencia libre de recidiva local comparando los pacientes con LOH en 3p y sin LOH en 3p de la serie de 41 pacientes sometidos a nefrectomía. Hospital Clínico San Carlos de Madrid. (1993-2010).

#### 4. Analisis univariable de la probabilidad acumulada de presentar metástasis de los pacientes con tumores renales en relación con las variables clínico patológicas, los factores pronósticos clásicos y la LOH en 3p.

El 50% de los pacientes con metástasis presentaron dichas metástasis a los 27 meses con un (RIC 8-44 meses).

La supervivencia libre metástasis en nuestra serie fue del 90% a los 36 meses, del 82,4% a los 60 meses y del 77,5% a los 120 meses (Figura 26).



**Figura 26.** Supervivencia libre de metástasis en nuestra serie de 41 pacientes sometidos a nefrectomía. Hospital Clínico San Carlos de Madrid. (1993-2010).

**Tabla LIV.** Descripción de las características tumorales y LOH de los pacientes con metástasis en la serie de 41 pacientes sometidos a Nefrectomía por tumor renal en el Hospital Clínico San Carlos (1993-2010).

Nº	Edad	Tipo celular <sup>A</sup>	Tam mm	Grado <sup>B</sup>	TNM <sup>C</sup>	Estadio <sup>C</sup>	3p14 <sup>D</sup>	3p21 <sup>D</sup>	3p25 <sup>D</sup>	Exitus
7	48	CCRcc	50	4	T3b N2	IV	2	2	3	Mtx Pulmón
9	67	CCRcc	60	2	T3b N0	III	2	1	2	Mtx Pulmón
11	78	CCRcc	60	3	T3b N0	III	2	1	2	Mtx Pulmón
20	71	CCRcc	85	2	T3b N0	III	2	2	2	Mtx Pulmón
22	77	CCRcc	50	2	T3b N0	III	2	2	2	Mtx Pulmón y óseas
25	73	CCRcc	100	3	T3a N0	III	2	2	2	Mtx Pulmón
31	53	CCRcc	50	2	T1b N0	I	2	2	1	Mtx Pulmón e Hígado
41	56	Bellini	95	3	T3b N0	III	2	1	2	Mtx cerebrales y vertebrales

<sup>A</sup> Tipos celulares según la clasificación de WHO (2004). <sup>B</sup> Grados de diferenciación nuclear de Fuhrman. <sup>C</sup> Clasificación TNM y estadio según la UICC y AJCC (edición 2002). <sup>D</sup> 1: Pérdida de heterocigosidad 2: Retención de la heterocigosidad 3: Inestabilidad

En la tabla LV se describe el análisis univariable de la existencia de metástasis en relación con las variables clínico-patológicas. Nuestros datos evidenciaron en nuestra corte, una probabilidad acumulada mayor en los tumores menores de 5 cm de estar libres de metástasis que los pacientes con tumores mayores o igual de 5 cm ( $p = 0,017$ ). En el resto de variables no se encontró asociación.



**Tabla LV.** *Análisis univariable de la existencia de metástasis en relación con las variables clínico-patológicas. Serie de 41 pacientes sometidos a nefrectomía. Hospital Clínico San Carlos de Madrid (1993/2010).*

VARIABLE	N	EVENTOS METÁSTASIS	PROBABILIDAD ACUMULADA %			p
			36	60	120	
<u>SEXO</u>						
Varón	29	5	92,9	85,6	85,6	0,504
Mujer	12	3	83,3	75	75	
<u>DIAGNÓSTICO</u>						
Sintomático	24	6	82,6	78,3	78,3	0,289
Incidental	17	2	100	87,8	87,8	
<u>TAMAÑO</u>						
Mayor 5	24	8	83,3	70,8	70,8	0,017
Menor 5	17	0	100	100	100	
<u>MULTIFOCALIDAD</u>						
Si	6	0	100	100	100	0,226
No	35	8	88,2	79,2	79,2	

La tabla LVI describe el análisis univariable de la existencia de metástasis en relación con los factores pronósticos clásicos. En nuestra serie se encontró asociación estadísticamente significativa entre la aparición de metástasis y las variables de categoría pT, estadio y grado nuclear ( $p < 0,000$ ,  $p < 0,000$  y  $p = 0,014$  respectivamente)

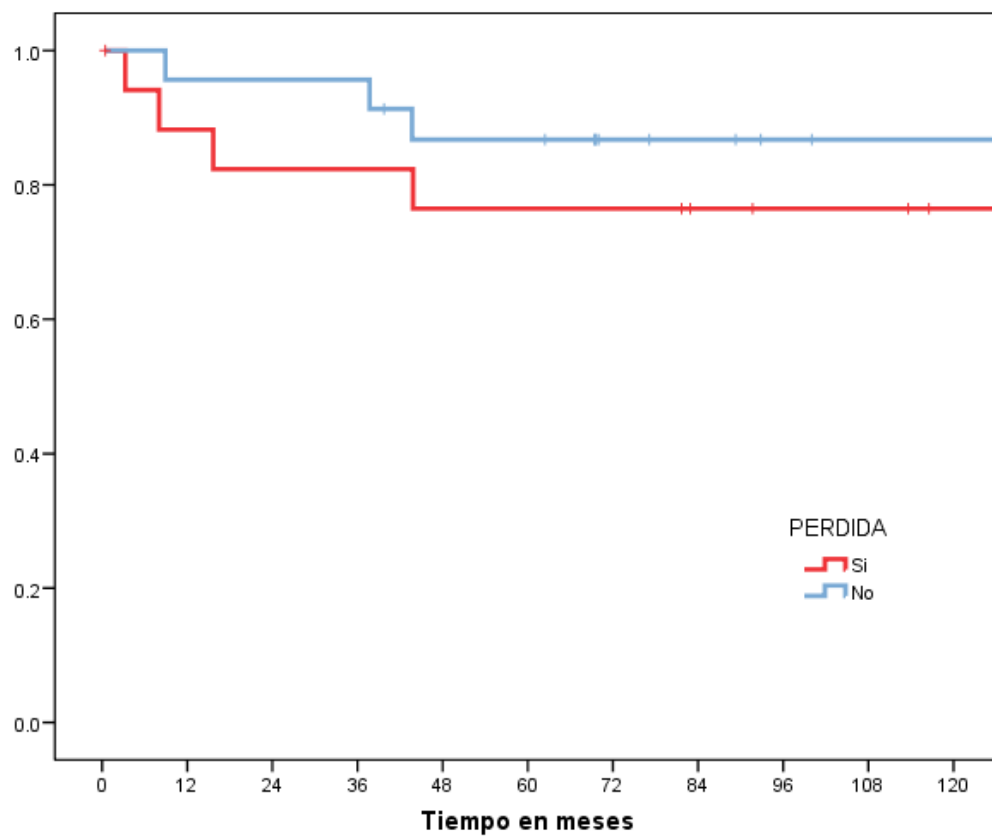
**Tabla LVI.** Análisis univariable de la existencia de metástasis en relación con los factores pronósticos clásicos. Serie de 41 pacientes sometidos a nefrectomía. Hospital Clínico San Carlos de Madrid (1993/2010).

VARIABLE	N	EVENTOS METÁSTASIS	PROBABILIDAD ACUMULADA %			p
			36	60	120	
<u>TIPO CELULAR</u>						
CCR cc	29	7	89,3	78,3	78,3	0,671
CCR Papilar	5	0	100	100	100	
CCR Cromóforo	1	0	100	100	100	
Oncocitoma	2	0	100	100	100	
CCR Bellini	4	1	75	75	75	
<u>pT 2002</u>						
pT1a	13	0	100	100	100	0,000
pT1b	9	1	100	100	100	
pT2	2	0	100	100	100	
pT3a	7	1	85,7	85,7	85,7	
pT3b	8	6	62,5	25	0	
<u>ESTADIO</u>						
I	22	1	100	100	100	0,000
II	2	0	100	100	100	
III	14	6	78,6	57,1	57,1	
IV	1	1	0	0	0	
<u>GRADO NUCLEAR</u>						
1-2	29	4	100	89	89	0,014
3-4	10	4	60	60	60	

En la tabla LVII describimos el análisis univariable de existencia de metástasis en relación con la pérdida de heterocigosidad en el brazo corto del cromosoma 3. La aparición de metástasis no se asoció con ninguna variable en relación con la LOH en 3p en nuestra serie.

**Tabla LVII.** *Análisis univariable de existencia de metástasis en relación con la pérdida de heterocigosidad en el brazo corto del cromosoma 3. Serie de 41 pacientes sometidos a nefrectomía. Hospital Clínico San Carlos de Madrid (1993/2010).*

VARIABLE	N	EVENTOS METÁSTASIS	PROBABILIDAD ACUMULADA %			p
			36	60	120	
<u>3p14</u>						
Pérdida	3	0	100	100	100	0,497
No pérdida	37	8	89,2	80,9	80,9	
<u>3p21</u>						
Pérdida	16	3	86,7	80,0	80,0	0,917
No pérdida	25	5	92	83,8	83,8	
<u>3p25</u>						
Pérdida	6	1	100	100	100	0,179
No pérdida	23	6	90,9	81,6	81,6	
Inestabilidad	2	1	50	50	50	
<u>ALGUNA LOH</u>						
Pérdida	18	5	82,4	76,5	76,5	0,302
No pérdida	23	3	95,5	86,1	86,1	

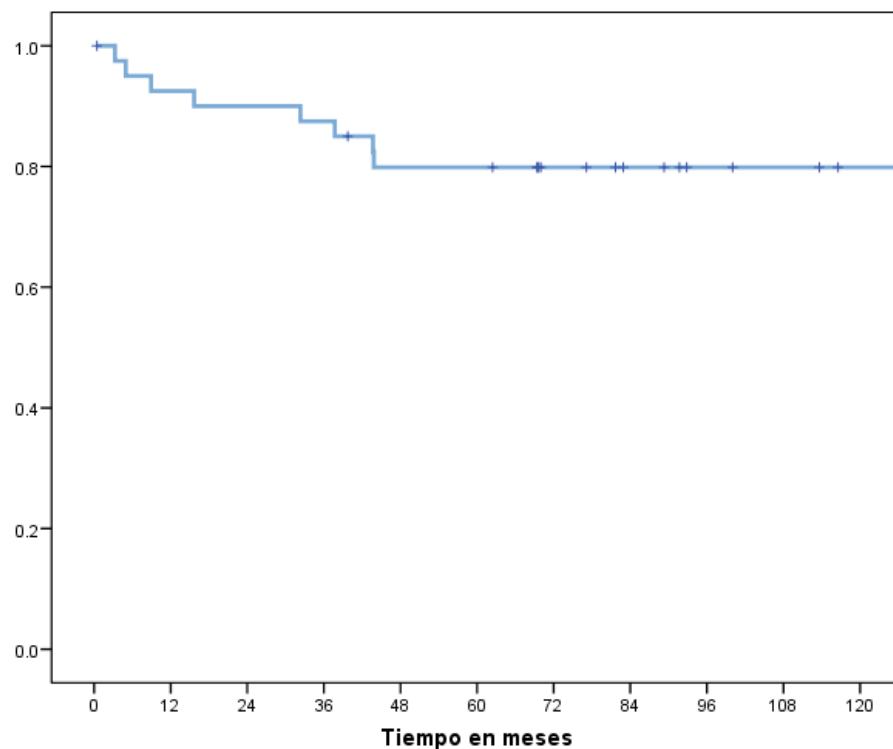


**Figura 27.** Supervivencia libre de metástasis comparando los pacientes con LOH en 3p y los que no tenían LOH en 3p de la serie de 41 pacientes sometidos a nefrectomía. Hospital Clínico San Carlos de Madrid. (1993-2010).

## 5. Analisis univariable de la probabilidad acumulada de la supervivencia libre de enfermedad de los pacientes con tumores renales en relación con las variables clínico patológicas, los factores pronósticos clásicos y la LOH en 3p.

Supervivencia libre de enfermedad (SLE): La mediana de SLE fue de 123 meses con un RIC (78-163).

La supervivencia libre de enfermedad en nuestra serie fue del 87,5% a los 36 meses, del 79,8% a los 60 meses y del 79,8% a los 120 meses.



**Figura 28.** Supervivencia libre de enfermedad de la serie de 41 pacientes sometidos a nefrectomía. Hospital Clínico San Carlos de Madrid. (1993-2010).

La tabla LVIII analiza de forma univariable la supervivencia libre de enfermedad en relación con las variables clínico-patológicas. La única variable en la que encontramos asociación con la SLE fue la del tamaño tumoral ( $p=0,010$ ). La probabilidad acumulada de estar libre de enfermedad a los tumores mayores o igual de 5 cm fue de 79,2% a los 36 meses y del 66,7% a los 60 y 120 meses mientras que para los tumores menores de 5 cm fue del 100% a los 120 meses.

**Tabla LVIII.** Análisis univariable de la supervivencia libre de enfermedad en relación con las variables clínico-patológicas. Serie de 41 pacientes sometidos a nefrectomía. Hospital Clínico San Carlos de Madrid (1993/2010).

VARIABLE	N	EVENTOS SLE	PROBABILIDAD ACUMULADA %			p
			36	60	120	
<u>SEXO</u>						
Varón	29	6	89,3	82,0	82,0	0,688
Mujer	12	3	83,3	75,0	75,0	
<u>DIAGNÓSTICO</u>						
Sintomático	24	7	78,3	73,9	73,9	0,170
Incidental	17	2	100	87,8	87,8	
<u>TAMAÑO</u>						
Mayor 5	24	9	79,2	66,7	66,7	0,010
Menor 5	17	0	100	100	100	
<u>MULTIFOCALIDAD</u>						
Si	6	0	100	100	100	0,194
No	35	9	85,3	76,3	76,3	

La tabla LIX analiza de forma univariable la supervivencia libre de enfermedad en relación con los factores pronósticos clásicos. Encontramos en nuestra cohorte asociación entre la supervivencia libre de enfermedad y las variables pT2002, estadio y grado nuclear ( $p<0,000$ ,  $p<0,000$  y  $p=0,029$  respectivamente).

**Tabla LIX.** Análisis univariable de la supervivencia libre de enfermedad en relación con los factores pronósticos clásicos. Serie de 41 pacientes sometidos a nefrectomía. Hospital Clínico San Carlos de Madrid (1993/2010).

VARIABLE	N	EVENTOS SLE	PROBABILIDAD ACUMULADA %			p
			36	60	120	
<u>TIPO CELULAR</u>						
CCR cc	29	7	89,3	78,3	78,3	0,276
CCR Papilar	5	0	100	100	100	
CCR Cromóforo	1	0	100	100	100	
Oncocitoma	2	0	100	100	100	
CCR Bellini	4	2	50	50	50	
<u>pT 2002</u>						
pT1a	13	0	100	100	100	0,000
pT1b	9	2	88,9	88,9	88,9	
pT2	2	0	100	100	100	
pT3a	7	1	85,7	85,7	85,7	
pT3b	8	6	62,5	25	0	
<u>ESTADIO</u>						
I	22	2	95,2	95,2	95,2	0,000
II	2	0	100	100	100	
III	14	6	78,6	57,1	57,1	
IV	1	1	0	0	0	
<u>GRADO NUCLEAR</u>						
1-2	29	5	96,4	85,4	85,4	0,029
3-4	10	4	60	60	60	

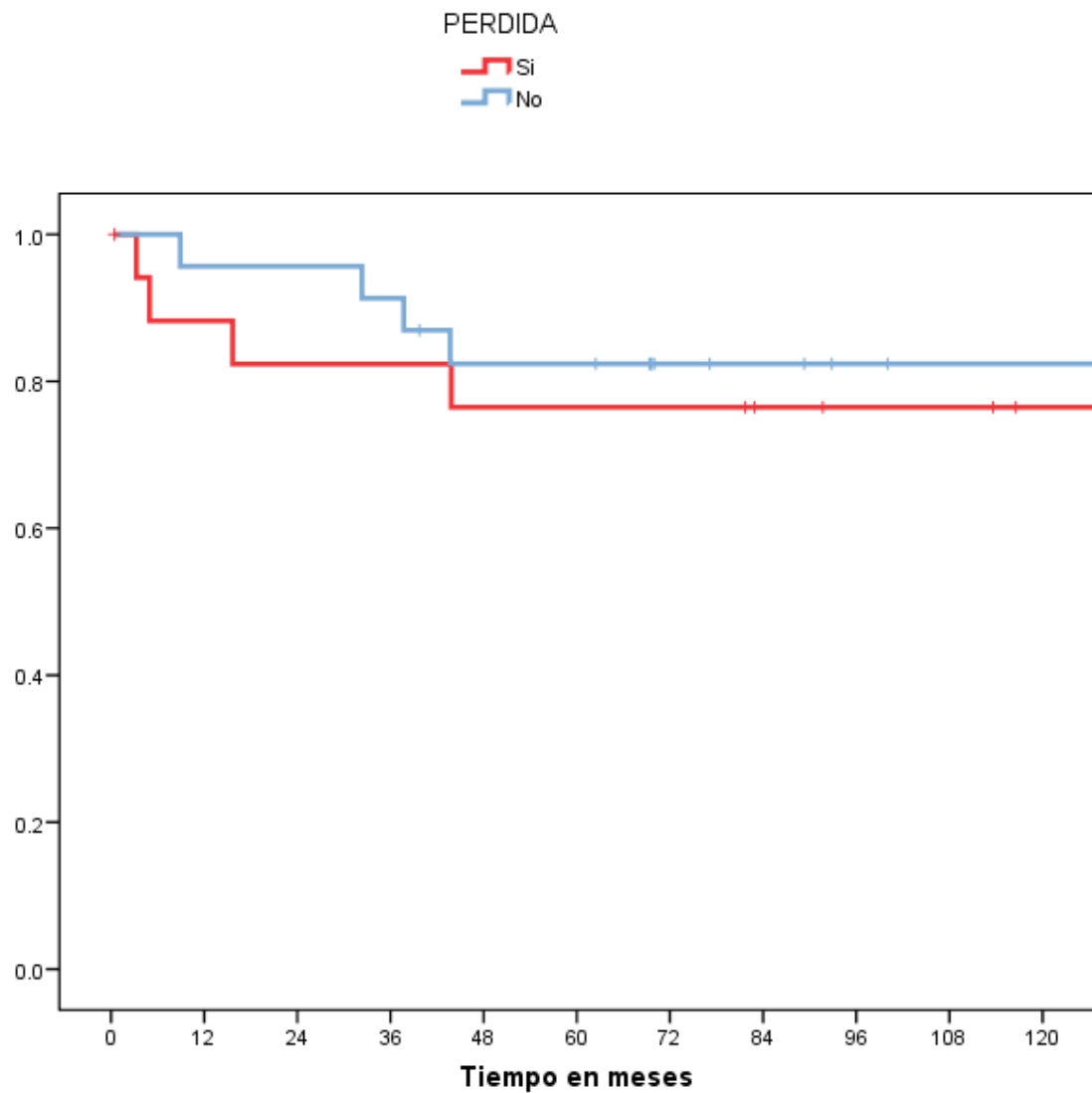
La tabla LX analiza de forma univariable la supervivencia libre de enfermedad en relación con la pérdida de heterocigosidad en el brazo corto del cromosoma 3. No se asoció con ninguna variable de la LOH en 3p en nuestra serie.

**Tabla LX.** Análisis univariable de supervivencia libre de enfermedad en relación con la pérdida de heterocigosidad en el brazo corto del cromosoma 3. Serie de 41 pacientes sometidos a nefrectomía. Hospital Clínico San Carlos de Madrid (1993/2010).

VARIABLE	N	EVENTOS SLE	PROBABILIDAD ACUMULADA %			p
			36	60	120	
<u>3p14</u>						
Pérdida	3	0	100	100	100	0,467
No pérdida	37	9	86,5	78,2	78,2	
<u>3p21</u>						
Pérdida	16	3	86,7	80,0	80,0	0,858
No pérdida	25	6	88,0	79,8	79,8	
<u>3p25</u>						
Pérdida	6	1	100	100	100	0,210
No pérdida	33	7	87,9	78,6	78,6	
Inestabilidad	2	1	50,0	50,0	50,0	

Se ajustó un modelo de Cox para evaluar si la pérdida se asociaba a la tasa de recidiva (local o metástasis). Se incluyeron las variables tamaño por categorías de < 5 cm. y  $\geq$  5 cm., pT2002 y LOH de al menos un locus. Se obtuvo que la pérdida se asoció con un ratio de Hazard (HR) de 1,70 (IC95% 1,01-6,40; p=0,04) ajustada por estadio y tamaño tumoral. El estadio se asoció con un HR de 2,02 (IC95% 1,20-4,51; p=0,020) y el tamaño  $\leq$  5 ejerce un efecto protector indeterminado dado que ninguno recidivó, ni presentó metástasis.





**Figura 29.** Supervivencia libre de enfermedad comparando los pacientes con LOH en 3p y los que no tenían LOH en 3p de la serie de 41 pacientes sometidos a nefrectomía. Hospital Clínico San Carlos de Madrid. (1993-2010).

# DISCUSIÓN

En la primera parte de este estudio hemos analizado las características de la población estudiada y la descripción de las variables clínico-patológicas. Los datos demográficos y las características de nuestra serie son similares a los publicados por otros autores. En este sentido, Klatte et al. (80) describen una serie de 282 CCR de células claras intervenidos entre 1999 y 2006 en los que estudiaron la pérdida de heterocigosidad en el brazo corto del cromosoma 3 (LOH 3p) cuya edad media fue de 60,4 años y la edad media de nuestra serie es 60,5 años. La distribución por sexos en su serie fue de 69% varones y 31% mujeres y en la nuestra de 70,7% varones y 29,3% mujeres.

La distribución por estadios de los tumores de nuestra serie es muy similar a la publicada por Moch et al. (75) en una revisión de 588 tumores renales alrededor del 50% de los CCRcc son estadios I y II, menos de un 5% son estadio IV y alrededor de un 45 % tienen invasión de la grasa perirrenal o afectación de la vena renal. En nuestra cohorte, 22 pacientes (56,4%) en estadio I, 2 pacientes (5,1%) estadio II, 14 pacientes (35,9%) estadio III y 1 paciente (2,6%) estadio IV.

Las características histopatológicas de los tumores analizados (tipo histológico, grado, TNM, etc.) nos han permitido realizar un minucioso estudio comparativo con las variables relacionadas con la pérdida de heterocigosidad del brazo corto del cromosoma 3. Utilizamos el TNM 2002 porque era el último publicado cuando cerramos el estudio. Nuestro estudio difiere de muchos de los consultados, puesto que nosotros incluimos todos los tipos histológicos, y no solo los CCR de células claras. En nuestra serie analizamos la pérdida de

heterocigosidad de los locus 3p14.1-14.3 (D3S1228), 3p21.2-21.3 (D3S1029) y 3p25 (D3S1038). En nuestra serie no estudiamos la pérdida de heterocigosidad en ningún otro cromosoma.

En la Tabla XX hemos descrito los datos histopatológicos y las alteraciones genéticas del brazo corto del cromosoma 3 de los 41 pacientes de nuestra serie.

Los carcinomas de células renales (CCR) se han considerado una entidad única. Hoy día, se considera más bien como una familia de cánceres que se originan por distintas anomalías genéticas con características propias, pero que proceden en su inmensa mayoría del epitelio tubular renal. Los avances de la genética y la biología molecular han arrojado luz sobre las alteraciones genéticas subyacentes a varios tipos de tumores corticales renales, y sobre las vías moleculares implicadas en su oncogénesis.

La mayoría de los investigadores que han publicado en este campo de la genética y los carcinomas de células renales (CCR) coinciden en señalar que la pérdida de secuencias de ADN en el brazo corto del cromosoma 3 es el hecho más característico y, posiblemente, uno de los primeros fenómenos genéticos en el desarrollo de los CCRcc. Se han descrito algunos artículos de pérdidas de material genético en el cromosoma 3p en otros tipos histológicos pero son pocos.

Estudios citogenéticos llevados a cabo por Cohen et al. (6) en 1979 demostraron una translocación entre los cromosomas 3 y 8 t(3;8) en una familia americana en los que 5 miembros que eran portadores de la translocación desarrollaron un CCR antes de los 40 años, mientras que 12 miembros que no eran portadores de dicha translocación llegaron a esa edad sin desarrollar un CCR. El punto de ruptura fue localizado en 3p14.2 t(3;8)(p14.2;q24.1) por Wang et al. (234).

Posteriormente Pathak et al. (259) describen otra familia en la que no encuentran ninguna alteración cromosómica constitucional pero uno de sus miembros presentaba una translocación adquirida t(3;11) en células tumorales metastásicas. El punto de ruptura de la translocación en el cromosoma 3 estaba localizado en la misma región que el descrito en la familia estudiada por Cohen et al.

Shimizu et al. (260) transfirieron por fusión microcelular un fragmento de ADN formado por 3pter-q13 y un pequeño segmento adicional desconocido en la línea celular de CCR (YCR) observando una supresión o reducción de los tumores en 4 subclones de esta línea celular en ratones desnudos lo que demostraba la implicación del 3p en la oncogénesis del CCR.

Julicher et al. (261). utilizando una librería de secuencias contiguas al 3p14 establecen un clon YAC 145F7 (Yeast Artificial Chromosome) de 530 Kb, dicho fragmento tiene la capacidad de inducir muerte celular *in vitro* y la supresión tumoral *in vivo*, cuando dicho fragmento se transfiere a la línea

---

celular tumoral RCC-1. Los autores concluyen que este clon de YAC contiene al menos un locus genético del CCR, que denominaron NRC-2.

Latif et al. (190) identificaron el gen VHL, un gen supresor tumoral de la enfermedad de von Hippel-Lindau, en la región 3p25.3. La presencia de entre un 43-57% de mutaciones somáticas del gen VHL en líneas celulares y en CCR primarios esporádicos (247) y entre un 11-19% adicional existe una hipermetilación aberrante de las zonas promotoras (249). Shuin et al. (262) encuentran pérdida de heterocigosidad del gen VHL en el 84% de estos tumores afirmando que el gen VHL está implicado en la oncogénesis de los CCRcc.

Sin embargo, numerosos estudios sugieren que, además del gen VHL, existe otro gen/es supresor/es tumoral/es en regiones proximales del cromosoma 3p, también implicado en la genética del CCRcc. Chudeck et al. (243) describen la existencia de una delección terminal de una importante región cromosómica con el punto de ruptura distal entre los locus D3S1606 and D3S3666, cuya distancia corresponde a 55 Mbp, en 94/104 (90%) de los CCRcc en que estudiaron la LOH utilizando 29 microsatélites. Mediante marcadores microsatélites se sabe que esta región incluye un gran fragmento de ADN que va desde la banda p14.1 hasta la región terminal del cromosoma 3p, incluyendo el gen VHL (263).

Wilhelm et al. (263) afirman que todos los puntos de ruptura a nivel del cromosoma 3p, bien por delección, bien por translocación, se producen entre los loci D3S1300 (3p14.2) y D3S1271 (3p11.1). El hecho de que estudios experimentales basados en transferencia de cromosomas mediada por microcélulas, demuestra que la introducción de secuencias de ADN, las cuales no contienen secuencias que incluyen el gen VHL, pueden modular el fenotipo de una línea celular de carcinomas de células renales. Con toda probabilidad, estas regiones inestables constituyen una base genética para delecciones, recombinaciones genéticas y translocaciones, las cuales conducen a la pérdida de secuencias de ADN en muchos tipos de cáncer. El esfuerzo de todos los investigadores que estudian la LOH en 3p está dirigido a localizar la región donde se pueden encontrar genes supresores que tengan su implicación en la iniciación, desarrollo o agresividad de los CCR.

El primer hallazgo de nuestro estudio es que la pérdida de heterocigosidad del 3p es una alteración característica de los CCR de células claras y de los CCR de los ductos colectores de Bellini. En nuestra cohorte detectamos LOH en 3p en 16 de 29 (55,17%) CCRcc y en 2 de 4 (50%) de los CCR de Bellini.

Foster et al. (264) describen 64% de LOH en 3p en CCR no papilares (35/55) utilizando 8 microsatélites. Thrash-Bingham et al. (265) publicaron un 40% (9/22) de LOH en 3p en CCR utilizando 3 microsatélites.

Moch et al. (266) encuentran un 56% de LOH en 3p en 41 pacientes con CCRcc utilizando hibridación genómica comparativa (CGH, siglas en ingles) y análisis de polimorfismo en la longitud de los fragmentos de restricción (RFLP, siglas en ingles) en 18 locus.

Klatte et al. (80) detectan 52% (147/282) de LOH en 3p en CCRcc utilizando una técnica de bandeo cromosómico con tinción de Giemsa. (GPG técnica).

Chen et al. (79) describen un 87% (69/80) de LOH en 3p en pacientes con CCRcc mediante la nueva técnica de hibridación genómica comparativa de Illumina's 317K SNP-CGH.

El hecho de que el resto de tipos histológicos de los CCR sea bastante menos frecuente que los CCRcc y el continuo cambio y aparición de nuevos tipos histológicos hace que la comparación de resultados de los distintos estudios sea muy difícil y en ocasiones no sea posible dicha comparación. Los CCRcc suponen el 70-80% de las series quirúrgicas junto con que presentan peor pronóstico que otros tipos histológicos, hace que la mayoría de esfuerzos en investigación se dirijan al estudio y desarrollo de posibles tratamientos en este tipo histológico de carcinomas de células renales. En nuestra serie, los CCR de células claras son el 70,7% (29/41) de nuestra serie.

Evidenciamos LOH en 3p en 2/4 (50%) de los casos de CCR de los ductos colectores de Bellini. Fogt et al. (125) han publicado la mayor serie en el



---

estudio de la pérdida de heterocigosidad en los CCR de ductos colectores de Bellini y ellos encuentran LOH en 3p en 10/18 (55%) CCR de los ductos de Bellini y en 7/9 (77%) CCRcc utilizando 2 microsatélites.

En el resto de los distintos tipos celulares de los CCR de nuestra serie no encontramos LOH en 3p ni en los CCR papilares (0/5), ni en el CCR cromóforo.

Kovacs (90) estudió la LOH en 3p en 100 CCR de los cuales 11 eran CCR papilares y no encontró LOH en 3p en ninguno de los CCR papilares. Sanders et al. (100) estudian la LOH en 3p en 25 CCR papilares (tipo 1 n=17; tipo 2, n=8) y lo compara con 20 CCRcc. Encontraron mayor frecuencia de LOH en los CCRcc que en los CCR papilares (77,8% frente a 37,5%). Específicamente en los CCR papilares objetivaron LOH en 7 de 17 (41,2%) de tipo 1 y 2 de 7 (28,6%) tipo 2 no encontraron diferencias significativas entre ambos tipos. Las alteraciones de LOH en 3p no se asociaron con alteraciones a nivel del gen VHL por lo que postulan que otros locus en 3p podrían estar relacionados en la patogénesis de los CCR papilares.

Klatte et al. (99) analizan 65 CCR papilares, 57(88%) mostraron un cariotipo anormal utilizando GPG (G-bands por Pancretina con tinción de Giemsa). La pérdida de material cromosómico se observó en 8 casos (14%). Tres tumores tenían pérdida del 3p, otros tres tumores tenían delecciones terminales con puntos de interrupción a nivel de 3p12, 3p14 y 3p25, un tumor tenía una pérdida intersticial en 3p12-21 y otro mostró una translocación

---

desequilibrada der(3) t(3;10)(p11.2;q11.2). En esta serie los pacientes con LOH en 3p tenían peor supervivencia ( $p < 0,001$ ), lo que representaba un aumento del riesgo de 13,4 veces mayor de muerte por CCR papilar.

Recientemente Marsaud et al. (267) publican que los CCR papilares son un grupo heterogéneo de tumores con distinta evolución. Mientras que la mayoría CCR papilares tipo 2 tenían perfiles genéticos similares a CCR papilares tipo 1, algunos de estos CCR papilares tipo 2 comparten características como la pérdida de 3p y la pérdida del cromosoma 14, con los CCR de células claras.

Existen escasos estudios que analicen la LOH en 3p en los CCR cromófobos. Bugert et al. (112) encuentran LOH en 7 de 42 (16,6%) CCR cromófobos.

En el análisis de LOH utilizando microsatélites podemos también observar inestabilidad de dichos microsatélites. Willers et al. (268) describen la existencia de inestabilidad de microsatélites en al menos un locus en la región 3p12-21 en 12 de 14 CCR de células claras y no encuentran inestabilidad en ninguno de los 6 CCR que no eran de células claras. Esta inestabilidad de microsatélites (MIN, siglas en inglés de microsatellite instability) es un fenómeno general en las células tumorales, y consiste en la aparición en estas células de alelos nuevos, extra, para algunos marcadores microsatélites no necesariamente localizados en las regiones implicadas en los procesos tumorales.

---

Así, los tumores se pueden clasificar en MIN<sup>+</sup> cuando se observa la ganancia de alelos para una proporción importante de los marcadores testados, independientemente de su localización cromosómica y MIN<sup>-</sup> cuando no se produce este fenómeno. Fishel et al. (269) relacionaron el fenómeno MIN<sup>+</sup> con los llamados genes mutadores de E. Coli y levaduras. Estos genes codifican para un sistema de corrección de errores. Este sistema identifica la secuencia que sirve de molde durante la replicación y corrige selectivamente la cadena nueva si se han producido en ella mutaciones (270). Las mutaciones en los genes que codifican para este sistema de corrección de errores, llamados MutHLS en E. coli, dan lugar a un incremento en la tasa de mutaciones de entre 100-1000 veces. Fishel et al. clonaron el homólogo humano de uno de estos genes, MutS, localizado en 2p15-p22 y vieron que estaba mutado en familias afectadas de cáncer de colon hereditario sin poliposis. Otros autores encontraron tres genes más de este tipo localizados en 2q31-q33, 7p22 y el gen MLH1 en 3p21.3 estando esta última región cromosómica relacionada con los carcinomas de células renales.

En este estudio encontramos inestabilidad en el microsatélite D3S1038 en dos pacientes con CCR de células claras y dicha inestabilidad no se correlacionó con ninguna variable clínica, característica tumoral, estadio, ni factores pronósticos, mientras que en un paciente el tumor fue muy agresivo (estadio IV), en otro fue un estadio I.

Existe una importante variabilidad entre los distintos resultados descritos en la cifra del porcentaje de pérdida de heterocigosidad en el 3p en los CCR.

La principal razón de esta diferencia en los resultados según algunos autores (271) radica en la presencia de más o menos importante de células sanas (linfocitos, monocitos, macrófagos) en las muestras tumorales, lo cual ocasionaría una contaminación con ADN sano. De tal forma, que la presencia en la muestra tumoral de las 2 bandas alélicas del ADN de las células sanas podría estar enmascarándonos la LOH presente en las células tumorales.

Al respecto de este tema, Linehan et al. (272) publicaron que la infiltración linfocitaria era la responsable de la presencia de pérdidas alélicas parciales en lugar de pérdidas completas en el CCR. Según este artículo, en el proceso de obtención y procesamiento de las muestras radicaría la verosimilitud de los resultados y su correcta valoración.

Revisando estudios relevantes en este sentido, Presti et al. (273) obtienen el ADN de muestras previamente parafinadas, y conscientes de la dificultad en la lectura de los resultados consideran LOH una disminución de al menos un 25% en la intensidad de señal en un alelo en el tejido tumoral.

En los estudios por la gran mayoría de los investigadores, al igual que el presente estudio, el ADN se ha obtenido de muestras frescas en el momento de la cirugía, intentando realizar una cuidadosa disección del tejido de apariencia tumoral. Para la valoración de los resultados algunos autores hablan de pérdidas alélicas completas, pérdidas parciales y de inestabilidad de microsatélites.

La pérdida completa de heterocigosidad consiste en la desaparición total de una banda alélica; la pérdida parcial o incompleta consiste en la disminución en la intensidad de una banda alélica; y la inestabilidad de microsatélites es un concepto que hemos comentado previamente, y que hace referencia a un fenómeno general presente en las células tumorales y que consiste en la aparición en estas células de alelos nuevos, extra, para algunos marcadores microsatélites.

Los estudios realizados por el Grupo de Investigación Clínica en Oncología Molecular y el Departamento de Urología de la Universidad de Heidelberg en los que han descrito LOH en el 98% de los CCR no papilares (242, 243, 263, 270), han extraído el ADN de cultivos de líneas celulares de CCR, asegurándose de esta forma que todo el ADN analizado proviene de células tumorales y no existe contaminación con ADN de células sanas. Bugert P. y Kovacs G. (274) refieren que el análisis del ADN tumoral sin contaminación por ADN normal es el punto más crítico para determinar la pérdida de heterocigosidad utilizando marcadores microsatélites. Por ello en todos sus trabajos sobre LOH parten de cultivos de líneas celulares. En dicho trabajo (274), describen un procedimiento para aislar células tumorales con menos de un 10% de contaminación con ADN de células normales sin necesidad de realizar cultivos. El procedimiento consiste en utilizar para la extracción del ADN, la interfase que se forma tras la sedimentación, puesto que contiene pequeños acúmulos celulares con mínima contaminación de macrófagos o células endoteliales.

Contrarios a esta línea de investigación se encuentra Thrash-Bingahm et al. (265) quienes estudiando LOH en 33 CCR detectaron pérdidas en una media de 2,9 brazos cromosómicos/tumor en las 27 líneas celulares cultivadas y en 2,2 brazos cromosómicos/tumor en las 6 muestras de tejido tumoral congelado, concluyendo que los cultivos celulares in vitro tienen escaso impacto sobre la pérdida de heterocigosidad.

Esta diferencia en los porcentajes parece depender también de la cantidad de microsatélites utilizados para determinar la pérdida de heterocigosidad. Chudek et al (243) describen LOH 3p en el 96% de los CCR no papilares (100/104) y utilizaban 29 microsatélites mientras que Foster et al. (264) describen 64% de LOH en 3p en CCR no papilares (35/55) utilizando 8 microsatélites y Thrash-Bingham et al. (265) publicaron un 40% (9/22) de LOH en 3p en CCR utilizando 3 microsatélites.

Otra de las controversias en este tema es que mientras algunos autores, como el grupo de Kovacs et al. (242, 243, 263, 270) describen fundamentalmente deleciones terminales y sugieren que los que encuentran deleciones intersticiales es debido a la contaminación de las muestras tumorales con ADN de células no tumorales.

Otros autores como Alimov et al. (275) comparan la LOH en 3p utilizando 7 microsatélites localizados en regiones frecuentemente deleccionadas y encuentran retención de la heterocigosidad en 6 de 12 tumores sugiriendo deleciones intersticiales en estos casos. Estas deleciones

---

intersticiales las confirmaron con Hibridación Genómica Comparada (CGH, siglas en ingles) en 3 de los 6 casos.

En estudios más recientes Cheng et al. (79) encuentran LOH en 3p 69/80 (87,3%) en CCRcc de los cuales 38 tumores presentaban pérdida completa del brazo corto del 3p, 30 tumores tenían delecciones terminales con distintos puntos de ruptura entre 3p21-26 y un tumor tenía una LOH intersticial (que incluía pérdida de regiones 3p12-14, 3p21-22, 3p24.1-24.2 y 3p24.3 pero no incluía el gen VHL en 3p25).

Klatte et al. (80) detectan LOH en 3p en 147/282 CCRcc (52%) de los cuales 61 (41%) mostraban monosomías enteras del cromosoma 3, 35 CCRcc (24%) tenían translocaciones desequilibradas, 5 tumores delecciones intersticiales entre 3p13 y 3p21, 21 tumores con delecciones terminales con puntos de ruptura entre el centrómero y p25cen-p25, 18 tumores con delecciones debido a translocaciones desequilibradas afectando a regiones cromosómicas no identificadas y el brazo corto del cromosoma 3 y 7 CCRcc tenían inversiones peri y paracéntricas.

En nuestra serie es difícil determinar mediante 3 microsatélites si existían delecciones terminales o intersticiales en el brazo corto del cromosoma 3, lo que si podemos decir es donde encontramos pérdida de material genético cromosómico.

La LOH en 3p si se ha relacionado con los factores pronósticos en distintas series pero estas reordenaciones o alteraciones estructurales específicas (monosomías, deleciones terminales, translocaciones desequilibradas, deleciones intersticiales, inversiones o etc.) en el brazo corto del cromosoma 3 no se han relacionado individualmente con las características tumorales de los CCRcc o con los factores pronósticos.

El análisis de la LOH en los CCRcc ha identificado varias zonas frecuentemente afectadas en el brazo corto del cromosoma 3 y por lo tanto se piensa que en esas zonas pueden existir uno o varios genes supresores.

Wilhelm et al. (263) sugieren que un gen supresor tumoral, además del gen VHL, podría estar localizado en algún lugar del cromosoma 3p distal al punto de translocación familiar 3;8 o en la zona de los puntos de ruptura entre el locus D3S1603 y el D3S1595, aunque dado el tamaño tan grande de la región 3p11.2-p14.1 la posibilidad de que el mismo gen esté implicado en todos los casos queda descartada. Lo más probable es que esta región inestable sirva de base genética de otras alteraciones tales como deleciones terminales, recombinaciones meióticas o mitóticas y translocaciones.

Druck et al. (276) examinan con detalle la región 3p14.2 buscando regiones comunes de pérdida de LOH en 35 CCRcc. Estudiaron la región con 7 marcadores microsatélites desde D3S1295 hasta D3S1285 e incluye el punto de ruptura de la translocación (3;8) del CCRcc familiar. El 89% de los CCRcc (31/35) mostraron una región común de pérdida entre los locus D3S1481 y



---

D3S1312 los cuales delimitan por un lado el punto de ruptura de la translocación 3;8 y por otro lado el gen PTPY. En la región 3p14.2 es donde se localiza el gen FHIT y Werner et al. (277) describen que dicho gen puede comportarse como un gen supresor en los CCR. Estas observaciones inducen a pensar que podría existir un gen en la vecindad del punto de ruptura de la translocación 3:8 que tendría un papel importante no solo en el CCR familiar t(3;8) sino también en los CCRcc esporádicos.

En nuestra serie, investigando la región en 3p14 con el microsatélite D3S1228 encontramos LOH en 3 de 29 CCRcc, y estos tres tumores también presentaron pérdida de heterocigosidad en los otros 2 marcadores microsatélites confirmando que esta región sería una zona inestable para delecciones terminales, translocaciones, etc.

Otros autores, en cambio afirman que la zona más frecuentemente deleccionada o con pérdida de heterocigosidad en los CCRcc es la zona 3p21-21.3 acorde a nuestros resultados. Yamakawa et al. (245) encuentran LOH en 3p en 30/38 (79%) CCR, la segunda región más deleccionada fue en 3p21.3 que engloba al microsatélite D3F15S2, el cual ya había sido publicada su alta incidencia de pérdida de heterocigosidad en los CCR. van den Berg et al. (257) estudian la LOH en 44 CCR con 18 marcadores microsatélites y encuentran el mayor número de delecciones en 3p21; estas delecciones se producían asociadas a la región del gen VHL o asociadas a la región que contenía el punto de ruptura de la t(3;8) o ambas, pero en varios casos había retención de la heterocigosidad en otros microsatélites por lo que afirman que es posible que

---

haya otros genes implicados en los CCR además del gen VHL. Posteriormente van den Berg y su grupo (278) analizan 3 pacientes con adenomas renales y uno de los pacientes presentaba un CCRcc y encontraron pérdidas alélicas de 3p25 y 3p12-14 pero no de 3p21 en los adenomas y el CCR que presentó uno de los pacientes tenía LOH en 3p25, 3p12-14 y 3p21, por lo que sugieren que la LOH en 3p21 puede ser un requisito para el desarrollo de los CCR.

Los esfuerzos posteriores han ido dirigidos a delimitar dicha zona en 3p21 donde se han encontrado delecciones homocigóticas en distintos tumores de pulmón, mama, riñón y tumores de cabeza y cuello (227,228, 237 y 279). Dichas investigaciones acotaron 2 regiones en 3p21, una denominada LUCA o 3p21.3C (centromérica) y AP20 o 3p21.3T (telomérica).

El microsatélite que presentó mayor pérdida de la heterocigosidad en nuestro estudio fue el D31029 localizado en 3p21.2-21.3 encontrando LOH en 14/29 (48,3%) de los CCRcc y en 2/4 (50%) de los CCR de los ductos colectores de Bellini. Este microsatélite está muy próximo e incluso en la región donde se han localizado los nuevos genes con implicación en los CCRcc.

La aparición de las tecnologías de secuenciación masiva en paralelo, han permitido el descubrimiento de nuevos genes mutados en los carcinomas de células renales de células claras; como son el PBRM1 (Polybromo 1) localizado en 3p21, BAP1 (proteína BRCA1) localizado en 3p21.1 y SETD2 (proteína que contiene el dominio SET2) localizado en 3p21.31. Estos genes se

encuentran en una región dentro del cromosoma 3, de 50 Mb que abarca el gen VHL y se encuentra pérdida de heterocigosidad alrededor del 90% de los CCRcc. Dada la alta concentración de genes supresores en una región tan pequeña es sorprendente que el carcinoma renal de células claras no sea más común (276 y 277). Los avances recientes han puesto de manifiesto la complejidad de los genomas de los CCR (233, 278).

Gerlinger et al. (279) describen como las mutaciones pueden ser ubicuas, compartidas y privativas. Las mutaciones adquiridas temprano durante el proceso de tumorigénesis son omnipresentes, mientras que las adquiridas en etapas más tardías son privativas, con mutaciones comunes en el medio. Las mutaciones en los genes VHL y PBRM1 pueden ser adquiridas en fases tempranas mientras que las mutaciones de BAP1 y SETD2 pueden ocurrir más tarde. En algunos CCRcc, hay diferentes mutaciones en SETD2 y esta convergencia se puede explicar por la cooperación entre PBRM1 y SETD2.

La incorporación de estos hallazgos a la clínica nos dará más información de los CCRcc. Se podrán realizar ensayos con técnicas inmunohistoquímicas dado que las mutaciones de PBRM1 Y BAP1 conducen a la pérdida de proteína (232). En cuanto a los mecanismos de acción de PBRAM1, BAP1 y SETD2; serán necesarias nuevas investigaciones para identificar objetivos en el desarrollo de nuevas terapias.

Los cambios genéticos y epigenéticos subyacentes en los CCRcc incluyen las alteraciones en los genes que controlan la detección celular de

---

oxígeno (gen VHL, HIF1 $\alpha$ , HIF2 $\alpha$ ) y el mantenimiento de los estados de la cromatina (PBRM1) Creighton et al. (233), analizan 417 CCRcc utilizando diferentes plataformas genómicas y vieron que: la vía PI3K/Akt se encontraba mutada de forma recurrente, lo que sugiere esta vía como una diana terapéutica potencial, la hipometilación del ADN generalizada se asoció con la mutación de la metiltransferasa H3K36 (SETD2), y mutaciones implicadas en la remodelación de la cromatina SWI/SNF (PBRM1, ARID1A, SMARCA4) podrían tener efectos de largo alcance en otras vías..

El PBRM1, una subunidad del complejo de remodelación de la cromatina PBAF SWI/SNF, así como la histona desubiquinasa BAP1 y la histona metiltransferasa SETD2, se han encontrado recientemente estar alterados en el 41%, 15% y 12% de los carcinomas renales de células claras respectivamente.

En nuestro estudio encontramos LOH en 3p25 en el 20,7% (6/29) de los CCR de células claras. Esta frecuencia es menor a la publicada por Gnarr (247). Esta menor frecuencia podría ser debida, bien por la utilización de un único marcador a este nivel, por la existencia de mutaciones sin pérdida de heterocigosidad o por la contaminación con ADN sano de alguna muestra tumoral, como explicamos al inicio de la discusión.

Al estudiar en nuestra serie la pérdida de heterocigosidad en las distintas regiones cromosómicas del brazo corto del cromosoma 3 no encontramos ninguna asociación estadísticamente significativa con las variables

demográficas, ni con las variables clínicas, ni con las histopatológicas o características tumorales.

Presti et al. (273) analizaron la LOH en el brazo corto del cromosoma 3 en 60 CCR no papilares y no encontraron ninguna correlación ni con el grado nuclear, ni con el estadio.

Anglard et al. (244) estudian la pérdida de heterocigosidad en 3p con 10 microsatélites en 58 pacientes con CCR encontrando un 88% de LOH en uno o más locus y esta pérdida fue independiente del estadio tumoral.

Sugimura et al. (280) determinan la LOH en 3p en 42 pacientes con CCR, de ellos 29 son CCRcc y encontraron LOH en 3p en 11/29 tumores (38%) no encontraron relación con el estadio tumoral.

Velickovic et al. (103) publican una serie de 87 CCR de células claras en los que estudian la LOH en 3p14.2 y 3p25-26 utilizando 4 y 8 microsatélites respectivamente. Encontraron mayor frecuencia de LOH en la región 3p14.2 y en grados tumorales menores por lo que sugerían que las deleciones de la región 3p14.2 podían ser uno de los primeros eventos en la patogénesis de los CCR cc precediendo a las deleciones del gen VHL.

Chen et al. (79) analizan 80 pacientes con CCRcc y no encuentran correlación entre la LOH en 3p y el tamaño tumoral, ni con el grado nuclear.

Kondo et al. (281) estudian 240 CCR y el gen VHL mediante secuenciación, estudio de la metilación y la pérdida de heterocigosidad y al igual que nosotros no encuentran asociación entre los datos clínico-patológicos incluyendo el diámetro del tumor, estadio, clasificación, metástasis a distancia, y la metástasis de los ganglios linfáticos. Curiosamente, la mutación del gen VHL fue significativamente menos frecuente en los pacientes con CCR  $\leq 55$  años que en los  $> 56$  años.

Muchos de estos autores, sugieren o afirman que, el que no exista relación con los datos clínicos o con los factores pronósticos clásicos indica que la pérdida de LOH en 3p o en el gen VHL ocurre en las fases iniciales o en etapas tempranas del desarrollo de los CCR de células claras.

No hemos encontrado en la literatura una serie con un seguimiento tan largo como la nuestra. La mediana de seguimiento de nuestra cohorte fue de 145 meses mientras que la de Klatte et al. (80) es de 25 meses.

En el análisis univariable de la probabilidad acumulada de supervivencia global de nuestra serie fue de un 94,9% a los 36 meses, del 87,2% a los 60 meses (5 años) y del 72,5% a los 120 meses (10 años). Estos datos son similares a los recogidos por la Dra. Bocardo en su tesis doctoral (282) en el que realiza una revisión de 241 nefrectomías entre los años 1989 y 2002. Las únicas variables que tuvieron asociación con la supervivencia global fueron la categoría pT y el estadio tumoral. ( $p=0,001$  y  $p=0,000$  respectivamente).

En nuestra cohorte la Supervivencia Cáncer Específica (SCE) a los 36 meses era de un 94,9%, del 89,6 % a los 60 meses (5 años) y del 86,5% a los 120 meses (10 años). El 50% de los pacientes que fallecieron por su CCR ocurrió a los 51 meses de la cirugía RIC (10-63 meses). Las variables en las que se encontró una correlación con la SCE fueron con la categoría pT y el estadio ( $p=0,000$  ambas). La pérdida de LOH en 3p25 presentó una tendencia a la significación  $p=0,056$ , es decir que los que tenían LOH en 3p25 presentaban mejor supervivencia cáncer específica.

En nuestra serie presentaron recurrencia local 4/41 pacientes. El 50% de los pacientes presentaron recidiva local a los 19 meses con un RIC (4-54 meses). Se evidenció una asociación de la supervivencia libre de recidiva local con las variables pT ( $p=0,04$ ), estadio tumoral ( $p=0,000$ ) y pérdida de la LOH 3p25 (0,03). Dado que solo se encontró recidiva local en los CCRcc y en los CCR de los ductos colectores de Bellini el tipo histológico tenía una tendencia a la significación ( $p=0,053$ ).

El 50% de los pacientes con metástasis presentaron dichas metástasis a los 27 meses con un (RIC 8-44 meses). La supervivencia libre metástasis en nuestra serie fue del 90% a los 36 meses, del 82,4% a los 60 meses y del 77,5% a los 120 meses (Figura 26). Se encontró asociación estadísticamente significativa entre la supervivencia libre de metástasis y las siguientes variables: tamaño tumoral mayor o igual de 5 cm ( $p=0,017$ ), pT ( $p=0,000$ ), estadio tumoral ( $p=0,000$ ) y grado nuclear ( $p=0,014$ ).

La mediana de la supervivencia libre de enfermedad (SLE) fue de 123 meses con un RIC (78-163). La supervivencia libre de enfermedad en nuestra serie fue del 87,5% a los 36 meses, del 79,8% a los 60 meses y del 79,8% a los 120 meses. El estudio evidenció una asociación entre la SLE y las variables de: tamaño tumoral mayor o igual de 5 cm ( $p=0,01$ ), pT ( $p=0,000$ ), estadio tumoral ( $p=0,000$ ) y grado nuclear ( $p=0,029$ ).

Klatte et al. (80) publican que en su estudio la LOH en 3p se asoció con categorías pT menores ( $p=0,073$ ), un riesgo menor de afectación linfática ( $p<0,001$ ), menor probabilidad de metástasis ( $p<0,001$ ), menor grado nuclear (60% versus 47%) y ausencia de características sarcomatoides ( $p=0,042$ ). Los pacientes con CCRcc y LOH en 3p presentaban mejores probabilidades de supervivencia que los pacientes con CCRcc que no presentaban LOH en 3p ( $p=0,028$ ). Realizaron un análisis de regresión de Cox en su serie y vieron que los pacientes con CCRcc y pérdida de heterocigosidad en 3p presentaban un riesgo 48% menor de fallecer de su CCRcc que los que no presentaban dicha pérdida de heterocigosidad.

Patard et al. (283) analizan 100 pacientes con carcinomas renales de células claras en los que determinan mutaciones del gen VHL y la expresión de CAIX (Anhidrasa Carbónica IX) por inmunohistoquímica. Los pacientes con mutaciones del gen VHL y alta expresión de CAIX tenían el pronóstico más favorable, los pacientes con una mutación del gen VHL o alta expresión de CAIX tenían un pronóstico intermedio y los pacientes sin mutación del gen VHL ni alta expresión de CAIX tuvieron el peor pronóstico.



Este estudio, como la mayoría de estudios tiene sus fortalezas y sus debilidades. Entre las debilidades del estudio, decir que la serie es algo corta y que la serie no era del todo homogénea en relación a los tipos histológicos.

Entre los puntos fuertes del estudio están el largo seguimiento de los pacientes así como, que estos estudios han servido para el descubrimiento y localización de determinados genes en el brazo corto del cromosoma 3 en los CCR de células claras por otros investigadores. El conocimiento de los mecanismos moleculares de estos nuevos genes dará la posibilidad de desarrollar nuevas terapias en los CCRcc.

# CONCLUSIONES

---

## CONCLUSIONES

1. La pérdida del material genético a nivel del brazo corto del Cr 3 es una alteración frecuente en los CCR de células claras. Nosotros detectamos LOH en 3p en el (55,2%) de los CCRcc, lo que sugiere la existencia de gen(es) tumoral (es) supresor (es) implicados en la génesis de este tipo de neoplasias.
2. Se ha mostrado en nuestra serie, una pérdida de heterocigosidad (LOH) en el 50% de los CCR de los ductos colectores de Bellini.
3. El marcador D3S1029 localizado en la región 3p21.2-21.3 presentó en nuestra serie el mayor número de pérdidas genéticas de todos los estudiados, podría sugerir existencia probable de un/os gen/es supresores en vecindad de dicho locus.
4. La pérdida de heterocigosidad del brazo corto del cromosoma 3 no evidenció en nuestra cohorte relación con las variables clínico-patológicas, ni con el grado nuclear, ni con el estadio tumoral.
5. Los pacientes con LOH en 3p25 mostraron mejor supervivencia cáncer específica y mejor tasa de supervivencia libre de recidiva local que los que no presentaban LOH en 3p25.

**BIBLIOGRAFÍA**

---

## BIBLIOGRAFIA

1. Delahunt B., Eble J.N. *History of the development of the classification of renal cell neoplasia*. Lab Clin N Am. 2005; 25:231-246.
2. Mostofi F.K. *International Histological Classification of Tumours N° 25: Histological Typing of Kidney Tumours*. Geneva: World Health Organization; 1981.
3. Eble J.N., Sauter G., Epstein J.I. and Sesterhenn I.A. *Pathology and Genetics of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs. World Health Organization Classification of Tumours*. International Agency for Research on Cancer (IARC) Edited by IARC press. Lyon, 2004: 1-359.
4. Lam J.S., Leppert J.T., Figlin R.A., Belldegrun A.S. *Role of molecular markers in the diagnosis and therapy of renal cell carcinoma*. Urology. 2005; 66 (5 Suppl): 1-9.
5. Hagemijer A., Hoehn W., Smit E.M.E. *Cytogenetic analysis of human renal carcinoma cell lines of common origin (NC65)*. Cancer Res. 1979; 39: 4662-4665.
6. Cohen A.J., Li F.P., Berg S., Marchetto D.J., Tsai S., Jacobs S.C., et al. *Hereditary renal cell carcinoma associated with a chromosomal translocation*. N. Engl. J. Med. 1979; 301: 592-595.
7. Siegel R., Ma J., Zou Z., Jemal A. *Cancer statistics, 2014*. CA Cancer J. Clin. 2014; 64:9-29.
8. SEER Cancer Statistics Factsheets: Kidney and Renal Pelvis Cancer. National Cancer Institute. Betsheda M.  
<http://seer.cancer.gov/statfacts/html/kidrp/.html>.

- 
9. Leibovich B.C., Lohse C.M., Crispen P.L., Boorjian S.A., Thompson R.H., Blute M.L., et al. *Histological subtype is an independent predictor of outcome for patients with renal cell carcinoma*. J. Urol. 2010; 183: 1309-1315.
  10. Ferlay J., Steliarova-Foucher E., Lortet-Tieulent J., Rosso S., Coebergh J.W., Comber H., et al. *Cancer incidence and mortality patterns in Europe: estimates for 40 countries in 2012*. Eur. J. Cancer 2013; 49: 1374-1403.
  11. Centro Nacional de Epidemiología. *Epidemiología ambiental y Cáncer*. Mortalidad por Cáncer y otras causas en España, año 2007. <http://cne.isciii.es/>.
  12. Ferlay J., Bray F., Pisani P., Parkin D., *GLOBOCAN 2002: Cancer Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide, IARC CancerBase No. 5*. IARC Press, Lyon, 2004. <http://www.iarc>.
  13. Ferlay J., Parkin D.M., Steliarova-Foucher E. *Estimates of cancer incidence and mortality in Europe in 2008*. Eur. J. Cancer 2010; 46: 765-781.
  14. Aron M., Nguyen M.M., Stein R.J., Gill I.S. *Impact of gender in renal cell carcinoma: an analysis of the SEER data-base*. Eur. Urol. 2008; 54: 133-140.
  15. Pantuck A.J., Zisman A., Belldegrun A.S. *The changing natural history of renal cell carcinoma*. J. Urol. 2001; 166: 1611-1623.
  16. Chow W.H., Devesa S.S., Warren J.L., Fraumeni J.F. Jr. *Rising incidence of renal cell cancer in the United States*. JAMA. 1999; 281: 1628-1631.
  17. Vaishampayan U.N., Do H., Hussain M., Schwartz K. *Racial disparity in incidence patterns and outcome of kidney cancer*. Urology 2003; 62: 1012-1017.

- 
18. McLaughlin J.K., Blot W.J., Devesa S.S., Fraumeni J.F. Renal Cancer. *En Cancer Epidemiology and Prevention*. Schoffenfeld D., Fraumeni J.F. Jr. Eds. Oxford University Press. Oxford. 1996. Pag. 1142-1155.
  19. Collins S., McKierman J., Landman J. *Update on the epidemiology and biology of renal cortical neoplasms*. J. Endourol. 2006; 20: 975-985.
  20. Vogelzang N.J., Stadler W.M. *Kidney cancer*. Lancet. 1998; 352: 1691-1696.
  21. Hunt J.D., van der Hel O.L., Mc Millan G.P., Boffetta P., Brennan P. *Renal cell carcinoma in relation to cigarette smoking: meta-analysis of 24 studies*. Int. J. Cancer 2005; 114: 101-108.
  22. Chow W-H., Gridley G., Fraumeni J.F., Järnholm B. *Obesity, hypertension, and the risk of kidney cancer in men*. N. Engl. J. Med. 2000; 343: 1305-1311.
  23. Calle E.E., Kaaks R. *Overweight, obesity and cancer: epidemiological evidence and proposed mechanisms*. Nat. Rev. Cancer 2004; 4: 579-597.
  24. Calle E.E., Rodriguez C., Walker-Thurmond K., Thun M.J. *Overweight, Obesity, and Mortality from Cancer in a Prospectively Studied Cohort of U.S. Adults*. N. Engl. J. Med. 2003; 348: 1625-1638.
  25. Gago-Dominguez M., Castela J.E., Yuan J.M., Ross R.K., Yu M.C. *Lipid peroxidation: a novel and unifying concept of the etiology of renal cell carcinoma*. Cancer Causes Control 2002; 13: 287-293.
  26. Grossman E., Messerli F.H., Boyko V., Goldbourt U. *Is there an association between hypertension and cancer mortality?*. Am J Med 2002; 112: 479-486.
  27. Bonsib S.M. *Renal Cystic Diseases and Renal Neoplasms: A. Mini-Review*. Clin. J. Am. Soc. Nephrol. 2009; 4: 1998-2007.

- 
28. Schwarz A., Vatandaslar S., Merkel S., Haller H. *Renal cell carcinoma in transplant recipients with acquired renal cystic disease*. Clin. Am. Soc. Nephrol 2007; 2: 750-756.
29. Matson M.A., Cohen E.P. *Acquired cystic kidney disease: occurrence, prevalence and renal cancer*. Medicine. (Baltimore) 1990; 69: 217-226.
30. Hermida J.F. *Neoplasias en pacientes con trasplante renal*. Tesis Doctoral. Universidad Complutense. Madrid. 1998.
31. Ruiz Cerdá J.L. y Jimenez Cruz J.F. *Tumores del parénquima renal*. En: Tratado de Urología. Tomo II. Ed. Jiménez Cruz J.F. y Rioja Sanz L.A. Prous J.R. Editores Barcelona. 1993. pp 1093-1128.
32. Algaba F., Moreno A. y Trias I. *Tumores renales*. En: Uropatología Tumoral. Correlación morfológica, molecular y clínica. Ed. Pulso ediciones S.A. Barcelona. 1996. pp 21-101.
33. Novick A.C., Campbell S.C. *Renal tumors*. In: Campbell's Urology. Eighth edition. Ed. Walsh P.C., Retik A.B., Vaughan E.D., Wein A.J. Saunders, Elsevier Science. Philadelphia. 2002. Pp 2672-2731
34. Cheng L., MacLennan G.T., Zhang S., Wang M., Zhou M., Tan P.H., et al. *Evidence for polyclonal origin of multifocal clear cell renal cell carcinoma*. Clin. Cancer Res. 2008; 14 (24): 8087-8093.
35. Cohen H.T., McGovern F.J. *Renal-cell carcinoma*. N. Engl. J. Med. 2005; 353(23): 2477-2490.
36. Kletscher B.A., Qian J., Bostwick D., Andrews P.E., Zincke H. *Prospective analysis of multifocality in renal cell carcinoma: Influence of histological pattern, grade, number size, volume and deoxyribonucleic acid ploidy*. J. Urol. 1995; 153: 904-906.



- 
37. Nissenkorn I., Bernheim J. *Multicentricity in renal cell carcinoma*. J. Urol. 1995; 153: 620-622.
38. Kovacs G. *Molecular differential potential pathology of renal cell tumours*. Histopathology 1993; 22: 1-8.
39. Weiss L.M., Gelb A.B., Medeiros L.J. *Adult renal epithelial neoplasms*. Am. J. Clin. Pathol. 1995; 103: 624-635.
40. Kovacs G., Akhtar M., Beckwith B.J., Bugert P., Cooper C.S., Delahunt B., et al. *The Heidelberg classification of renal cell tumours*. J. Pathol. 1997; 183: 131-133.
41. Störkel S., Eble J.N., Adlakha K., Amin M., Blute M.L., Bostwick D.G. et al. *Classification of renal cell carcinoma: Workgroup No. 1*. Union Internationale Contre le Cancer (UICC) and the American Joint Committee on Cancer (AJCC). Cancer. 1997; 80: 987-989.
42. Maestro M.L., del Barco V., Moreno J., Izquierdo L., Sanz M.T., Zanna I., Redondo E., Chicharro J., et al. *Estudio de la pérdida de heterocigosidad en el brazo corto del cromosoma 3 en el carcinoma renal*. Arch. Esp. Urol. 1999; 52: 3-9.
43. Maestro M.L., del Barco V., Sanz-Casla M.T., Moreno J., Adrover E., Izquierdo L., et al. *Loss of Heterozygosity on the short arm of chromosome 3 in renal cancer*. Oncology. 2000; 59: 126-130.
44. Lopez-Beltrán A., Scarpelli M., Montironi, Kirkali Z. *2004 WHO Classification of the renal tumors of the adults*. Eur. Urol. 2006; 49: 798-805.
45. Srigley J.R., Delahunt B., Eble J.N., Egevad L., Epstein J.I., Grignon D., et al. and The ISUP Renal Tumor Panel. *The International Society of Urological*

- 
- Pathology (ISUP) Vancouver Classification of Renal Neoplasia. Am J Surg Pathol. 2013; 37: 1469-1489.*
46. Reis M., Faria V., Lindoro J., Adilfo A. *The small cystic and noncystic noninflammatory renal nodules: A post mortem study. J Urol. 1988; 140: 721-724.*
47. Kovacs G., Füzesi L., Emanuel A., Kung H.F. *Cytogenetics of papillary renal cell tumors. Genes Chromosom Cancer. 1991; 3: 249-255.*
48. Kovacs G. *Molecular cytogenetics of renal cell tumors. Adv. Cancer Res. 1993; 62: 89-124.*
49. Reuter V.E., Presti J.C. Jr. *Contemporary approach to the classification of renal epithelial tumors. Seminars Oncol. 2000; 27: 124-137.*
50. Romis L., Cindolo L., Patard J.J., Messina G., Altieri V., Salomon L., et al. *Frequency, clinical presentation and evolution of renal oncocytomas: multicentric experience from a European database. Eur. Urol. 2004; 45: 53–57.*
51. Reuter V.E., Gaudin P.B. *Adult renal tumors. In: Diagnostic Surgical Pathology. 3rd Edition. Ed: Stenberg S.S. Lippincott Williams&Wilkins. Philadelphia. 1999. Pp. 1785-1824.*
52. González-Peramato P., Picazo M.L., Nistal M. *Anatomía patológica de las neoplasias renales del adulto. En Tratado de Oncología Urológica. 1ª Edición. Ed. Resel L. y Moreno J. Sanidad y Ediciones S.L. Barcelona 2003. Pp 357-375.*
53. Dechet C.B., Bostwick D.G., Blute M.L., Bryant S.C., Zincke H. *Renal oncocytomas: Multifocality, bilateralism, metachronous tumor development and coexistent renal cell carcinoma. J. Urol. 1999; 162: 40-42.*

- 
54. Ac'h S., Chapuis H., Mottet N. *Metachronous renal oncocytomatosis*. Urol Int 2003; 70: 241-243.
55. Warfel K.A., Eble J.N. *Renal oncocytomatosis*. J. Urol. 1982; 127: 1179-1180.
56. Tickoo S.K., Reuter V.E., Amin MB., Srigley J.R., Epstein J.L., Min K.W., et al. *Renal oncocytosis: a morphologic study of fourteen cases*. Am. J. Surg. Pathol. 1999; 23: 1094-1101.
57. Yusenko M.V. *Molecular pathology of renal oncocytoma: A review*. International Journal of Urology 2010; 17: 602–614.
58. Brown J.A., Takahashi S., Alcaraz A., Borell T.J., Anderl K.L., Qian J., et al. *Fluorescence in situ hybridization analysis of renal oncocytoma reveals frequent loss of chromosomes Y and 1*. J. Urol. 1996; 156: 31-35.
59. Neuhaus C., Dijkhuizen T., van den Berg E., Störkel S., Stöckle M., Mensch B., et al. *Involvement of the chromosomal region 11q13 in renal oncocytoma: case report and literature review*. Cancer Genet. Cytogenet. 1997; 94: 95-98.
60. Fuzesi L., Gunawan B., Braun S., Boeckmann W. *Renal oncocytoma with a translocation t(9;11)(p23;q13)*. J. Urol. 1994; 152: 471-472.
61. van den Berg E., Dijkhuizen T., Storkel S., de la Rivière G.B., Dam A, Mensink H.J., et al. *Chromosomal changes in renal oncocytomas*. Evidence that t(5;11)(q35;q13) may characterize a second subgroup of oncocytomas. Cancer Genet. Cytogenet. 1995; 79: 164-168.
62. Zambrano N.R., Lubensky I.A., Merino M.J., Linehan W.M., Walther M.M. *Histopathology and molecular genetics of renal tumors toward unification of a classification system*. J. Urol. 1999; 162: 1246-1258.

- 
63. Yusenko M.V., Kuiper R.P., Boethe T., Ljungberg B., van Kessel A.G., Kovacs G., et al. *High-resolution DNA copy number and gene expression analyses distinguish chromophobe renal cell carcinoma and renal oncocytomas. BMC Cancer* 2009; 9: 152-162.  
<http://www.biomedcentral.com/1471-2407/9/152>
64. Gatalica Z., Grujic S., Kovatich A., Petersen R.O. *Metanephric adenoma: Histology, immunophenotype, cytogenetics, ultrastructure. Mod. Pathol.* 1996; 9: 329-333.
65. Kohashi K., Oda Y., Nakamori M., Yamamoto H., Tamiya S., Kinoshita Y., et al. *M. Multifocal metanephric adenoma in childhood. Pathol. Int.* 2009; 59(1): 49-52.
66. Brown J.A., Anderl K.L., Borell T.J., Qian J., Bostwick D.G., Jenkins R.B. et al. *Simultaneous chromosome 7 and 17 gain and sex chromosome loss provide evidence that renal metanephric adenoma is related to papillary renal cell carcinoma. J. Urol.* 1997; 158: 370-374.
67. Pesti T., Sukosd F., Jones E.C., Kovacs G. *Mapping a tumor suppressor gene to chromosome 2p13 in metanephric adenoma by microsatellite allelotyping. Hum. Pathol.* 2001; 32: 101-104.
68. Lerut E., Roskams T., Joniau S., Oyen R., Achten R., van Poppel H., et al. *Metanephric adenoma during pregnancy: clinical presentation, histology, and cytogenetics. Hum. Pathol.* 2006; 37(9): 1227-1232.
69. Rakheja D., Lian F., Tomlinson G.E., Ewalt D.H., Schultz R.A., Margraf L.R., et al. *Renal Metanephric Adenoma with previously Unreported cytogenetic abnormalities: Case report and Review of the literature. Pediatr. Dev. Pathol.* 2005; 8(2): 218-223.

- 
70. Reuter V.E, Tickoo S.K. Adult renal tumors. In: Mills Carter, Greenson Oberman, Reuter Stoler, editors. *Sternberg's diagnostic surgical pathology*. 4<sup>th</sup> edition, Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2004. pp 1955-1999.
71. MacLennan G.T., Cheng L. *Neoplasms of the kidney*. In: Bostwick D.G., Cheng L., Editores. *Urologic Surgical Pathology*. "2nd ed. Philadelphia: Mosby/Elsevier; 2008. pp 77-172.
72. Algaba F., Arce Y., Trias I., Santaularia J.M., Rosales A. *Aplicación clínica de las actuales clasificaciones del cáncer renal*. *Actas Urol. Esp.* 2006; 30(4): 372-385.
73. Cheng L., Zhang S., MacLennan G.T., López-Beltrán A., Montironi R. *Molecular and cytogenetic insights into the pathogenesis, classification, differential diagnosis, and prognosis of renal epithelial neoplasms*. *Human Pathology* 2009; 40: 10-29.
74. Tickoo S.K., Gopalan A. *Pathologic features of renal cortical tumors*. *Clin North Am.* 2008 Nov.; 35(4):551-61.
75. Moch H., Gasser T., Amin M.B., Torhorst J., Sauter G., Mihatsch M.J., et al. *Prognostic utility of the recently recommended histologic classification and revised TNM staging system of renal cell carcinoma: a Swiss experience with 588 tumors*. *Cancer* 2000; 89: 604-614.
76. Tsui K.H., Shvarts O., Smith R.B., Figlin R.A., deKernion J.B., Belldegrun A., et al. *Prognostic indicators for renal cell carcinoma: a multivariate analysis of 643 patients using the revised 1997 TNM staging criteria*. *J. Urol.* 2000; 163: 1090-1095.

- 
77. Kovacs G., Wilkens L., Papp T., de Riese W. *Differentiation between papillary and nonpapillary renal cell carcinomas by DNA analysis*. J. Natl. Cancer Inst. 1989; 81: 527-530.
78. Bugert P., Pesti T., Kovacs G. *The tcf17 gene at chromosome 5q is not involved in the development of conventional renal cell carcinoma*. Int. J. Cancer 2000; 86: 806-810.
79. Chen M., Ye Y., Yang H., Tamboli P., Matin S., Tannir N.M., et al. *Genome-wide profiling of chromosomal alterations in renal cell carcinoma using high-density single nucleotide polymorphism arrays*. Int. J. Cancer 2009; 125: 2342–2348.
80. Klatte T., Rao P.N., de Martino M., LaRochelle J., Shuch B., Zomorodian N., et al. *Cytogenetic Profile Predicts Prognosis of Patients With Clear Cell Renal Cell Carcinoma*. J. Clin. Oncol. 2009; 27:746-753
81. Kroeger N., Klatte T., Chamie K., Rao P.N., Birkhäuser F.D., Sonn G.A., et al. *Deletions of Chromosomes 3p and 14q Molecularly Subclassify Clear Cell Renal Cell Carcinoma*. Cancer. 2013; 119: 1547-1554.
82. Kovacs G. *Molecular differential pathology of renal cell tumours*. Histopathology 1993; 22: 1-8.
83. Halat S., Eble J.N., Grignon D.J., Lopez-Beltran A., Montironi R., Tan P.H., et al. *Multilocular cystic renal cell carcinoma is a subtype of clear cell renal cell carcinoma*. Mod Pathol. 2010; 23: 931-936.
84. Willianson S.R., Halat S., Eble J.N., Grignon D.J., Lopez-Beltran A., Montironi R., et al. *Multilocular cystic renal cell carcinoma*. Similarities and differences in immunoprofile compared with clear cell renal cell carcinoma. Am. J. Surg. Pathol. 2012; 36: 1425-1433.

- 
85. Mancilla-Jimenez R., Stanley R.J., Blath R.A. *Papillary renal cell carcinoma. A clinical, radiologic and pathologic study of 34 cases.* Cancer. 1976; 38: 2469-2480.
86. Cheville J.C., Lohse C.M., Zincke H., Weaver A.L., Blute M.L. *Comparisons of outcome and prognostic features among histologic subtypes of renal cell carcinoma.* Am. J. Surg. Pathol. 2003; 27: 612-624.
87. Delahunt B., Eble J.N. *Papillary renal cell carcinoma: a clinicopathologic and immunohistochemical study of 105 tumors.* Mod. Pathol. 1997; 10: 537-544.
88. Delahunt B., Eble J.N., McCredie M.R., Bethwaite P.B., Stewart J.H., Bilous A.M. *Morphologic typing of papillary renal cell carcinoma: comparison of growth kinetics and patient survival in 66 cases.* Hum. Pathol. 2001; 32(6): 590-595.
89. Srigley J.R., Delahunt B. *Uncommon and recently described renal carcinomas.* Mod. Pathol. 2009; 22(suppl. 2):S2-S3.
90. Kovacs G. *Papillary renal cell carcinoma. A morphological and cytogenetic study of 11 cases.* Am. J. Pathol. 1989; 134: 27-34.
91. van den Berg E., Dijkhuizen T., Oosterhuis J.W., Geurts van Kessel A., de Jong B., Störkel S., et al. *Cytogenetic classification of renal cell cancer.* Cancer Genet. Cytogenet 1997; 95: 103-107.
92. Schmidt L., Duh F.M., Chen F., Kishida T., Glenn G., Choyke P., et al. *Germline and somatic mutations in the tyrosine Kinase domain of the MET proto-oncogene in papillary renal carcinomas.* Nature Genet. 1997; 16: 68-73.
93. Schmidt L., Junker K., Weirich G., Glenn G., Choyke P., Lubensky I., et al. *Two North American families with hereditary papillary renal cell carcinoma*

- 
- and identical novel mutations in the MET protooncogene. Cancer Res. 1998; 58: 1719-1722.*
94. Iliopoulos O. and Eng Ch. *Genetic and Clinical Aspects of Familial Renal Neoplasms. Semin. Oncol. 2000; 27: 138-149.*
95. Duh F.M., Scherer S.W., Tsui L.C., Lerman M.I., Zbar B., Schmidt L., et al. *Gene structure of the human MET proto-oncogene. Oncogene. 1997; 15: 1583-1586.*
96. Glukhova L., Lavialle C., Fauvert D., Chudoba I., Danglot G., Angevin E., et al. *Mapping of the 7q31 subregion common to the small chromosome 7 derivatives from two sporadic papillary renal cell carcinomas: increased copy number and overexpression of the MET proto-oncogene. Oncogene 2000; 19: 754-761.*
97. Lubensky I.A., Schmidt L., Zhuang Z., Weirich G., Pack S., Zambrano N., et al. *Hereditary and sporadic papillary renal carcinomas with c.met mutations share a distinct morphological phenotype. Am. J. Pathol. 1999; 155: 517-526.*
98. Linehan W.M., Walther M.M., Zbar B. *The genetic basis of cancer of the kidney. J Urol. 2003; 170: 2163-2*
99. Klatte T, Pantuck A.J., Said J.W., Seligson D.B., Rao N.P., LaRochelle J.C., et al. *Cytogenetic and Molecular Tumor Profiling for Type 1 and Type 2 Papillary Renal Cell Carcinoma. Clin Cancer Res. 2009; 15:1162-1169*
100. Sanders M.E., Mick R., Tomaszewsky J.E., Barr F.G. *Unique patterns of allelic imbalance distinguish type 1 from type 2 sporadic papillary renal cell carcinoma. Am. J. Pathol. 2002; 161: 997-1005.*



- 
101. Antonelli A., Tardanico R., Balzarim P., Arrighi N., Perucchini L., Zanotelli T., et al. *Cytogenetic features, clinical significance and prognostic impact of type 1 and type 2 papillary renal cell carcinoma*. Cancer Genet. Cytogenet. 2010; 199: 128-133.
102. Lovell M., Trent Lott S., Wong P., El-Naggar A., Tucker S., Killary A.M., et al. *The genetic locus NRC-1 within Chromosome 3p12 mediates tumor suppression in renal cell carcinoma independently of histological type, tumor microenvironment, and VHL mutation*. Cancer Res. 1999; 59: 2182-2189.
103. Velickovic M., Delahunt B., Störkel S., Grebner S.K. *VHL and FHIT locus loss of heterozygosity is common in all renal cancer morphotypes but differs in pattern and prognostic significance*. Cancer Res. 2001; 61: 4815-4819.
104. Morrissey C., Martinez A., Zatyka M., Agathangelou A., Honorio S., Astuti D., et al. *Epigenetic inactivation of RASSF1A 3p21.3 tumor suppressor gene in both clear cell and papillary renal cell carcinoma*. Cancer Res 2001; 61: 7277-7281.
105. Thoenes W., Störkel S., Rumpelt H.J. *Human chromophobe cell renal carcinoma*. Virchows Arch. 1985; 48: 207-217.
106. Thoenes W., Störkel S., Rumpelt H.J., Moll R., Baum H.P., Werner S., et al. *Chromophobe cell renal carcinoma and its variants. A report on 32 cases*. J. Pathol. 1988; 155: 277-287.
107. Crotty T.B., Farrow G.M., Lieber M.M. *Chromophobe cell renal carcinoma: clinicopathological features of 50 cases*. J. Urol. 1995; 154: 964-967.
108. Renshaw A.A., Richie J.P. *Subtypes of renal carcinoma. Different onset and sites of metastatic disease*. Am. J. Clin. Pathol. 1999; 111(4): 539-549.

- 
109. Cheville J.C., Lohse C.M., Zincke H., Weaver A.L., Leibovich B.C., Frank I., et al. *Sarcomatoid renal cell carcinoma*. An examination of underlying histologic subtype and analysis of associations with patient outcome. *Am. J. Surg. Pathol.* 2004; 28(4): 435-441.
110. Volpe A., Novara G., Antonelli A., Bertini R., Billia M., Carmignani G., et al. *Surveillance and Treatment Update on Renal Neoplasms (SATURN) Project; Leading Urological No-Profit Foundation for Advanced Research (LUNA) Foundation*. *Chromophobe renal cell carcinoma (RCC): oncological outcomes and prognostic factors in a large multicentre series*. *BJU Int* 2012 Jul; 110(1): 76-83.
111. Speicher M., Schoell B., du Manoir S., Schröck E., Ried T., Cremer T., et al. *Loss of chromosomes 1,2,6,10,13,17, and 21 in chromophobe renal cell carcinomas revealed by comparative genomic hybridization*. *Am. J. Pathol.* 1994; 145: 356-364.
112. Bugert P., Gaul C., Weber K., Herbers J., Akhtar M., Ljungberg B., et al. *Specific genetic changes of diagnostic importance in chromophobe renal cell carcinomas*. *Lab. Invest.* 1997; 76: 203-208.
113. Akhtar M., Chantziantoniou N. *Flow cytometric and quantitative image cell analysis of dna ploidy in renal chromophobe cell carcinoma*. *Human Pathology*. 1998; 29: 1181–1188.
114. Kovacs A., Störkel S., Thoenes W., Kovacs G. *Mitochondrial and chromosomal DNA alterations in human chromophobe renal cell carcinomas*. *J. Pathol.* 1992; 167: 273-277.
115. da Silva N.F., Gentle D., Hesson L.B., Morton D.G., Latif F., Maher E.R., et al. *Analysis of the Birt-Hogg-Dube (BHD) tumour suppressor gene in*

- 
- sporadic renal cell carcinoma and colorectal cancer*. J. Med. Genet. 2003; 40(11):820-824.
116. Roth J.S., Rabinowitz A.D., Benson M., Grossman M.E. *Bilateral renal cell carcinoma in the Birt-Hogg-Dubé syndrome*. Am. Acad. Dermatol. 1993; 6: 1055-1056.
117. Sukosd F., Digon B., Fischer J., Pietsch T., Kovacs G. *Allelic loss at 10q23.3, but lack mutation of PTEN/MMAC1 in chromophobe renal cell carcinoma*. Cancer Genet. Cytogenet. 2001; 128: 161-163.
118. Amin M.B., Varma M.D., Tickoo S.K., Ro J.Y. *Collecting duct carcinoma of the kidney*. Adv. Anat. Pathol. 1997; 4: 85-94.
119. Srigley J.R., Eble J.N. *Collecting duct carcinoma of the kidney*. Sem. Diagn. Pathol. 1998; 15: 54-67.
120. Pepek J.M., Johnstone P.A., Jani A.B. *Influence of demographic factors on outcome of collecting duct carcinoma: a Surveillance, Epidemiology and End Results (SEER) data base analysis*. Clin. Genitourine Cancer 2009; 7: E24-E27.
121. Fuzesi L., Cober M., Mittermayer C. *Collecting duct carcinomas: cytogenetic characterization*. Histopathology 1992; 21: 155-160.
122. Steiner G., Cairns P., Polascik T.J., Marshall F.F., Epstein J.I., Sidransky D., et al. *High-density mapping of chromosomal arm 1q in renal collecting duct carcinoma: region of minimal deletion at 1q32.1-32.2*. Cancer Res. 1996; 56: 5044-5046

- 
123. el-Naggar A.K., Batsakis J.G., Wang G., Lee M.S. *PCR-based RFLP screening of the commonly deleted 3p loci in renal cortical neoplasms.* Diagn. Mol. Pathol. 1993; 2: 269-276.
124. Hadaczek P., Podolski J., Toloczko A., Kurzawski G., Sikorski A., Rabbitts P., et al. *Losses at 3p common deletion sites in subtypes of kidney tumours: histopathological correlations.* Virchows Arch. 1996; 429: 37-42.
125. Fogt F., Zhuang Z., Linehan W.M., Merino M.J. *Collecting duct carcinomas of the kidney: A comparative loss of heterozygosity study with clear cell renal carcinoma.* Oncology Reports 1998; 5: 923-926.
126. Schoenberg M., Cairns P., Brooks J.D., Marshall F.F., Epstein J.I., Isaacs W.B., et al. *Frequent loss of chromosome arms 8p and 13q in collecting duct carcinoma (CDC) of the kidney.* Genes Chromosomes Cancer 1995; 12: 76-80.
127. Davis C.J., Mostofi F.K., Sesterhenn I.A. *Renal medullary carcinoma: the seventh sickle cell nephropathy.* Am. J. Surg. Pathol. 1995; 19: 1-11.
128. Adsay N.V., deRoux S.J., Sakr W., Grignon D. *Cancer as a marker of genetic medical disease: an usual case of medullary carcinoma of the kidney.* Am. J. Surg. Pathol. 1998; 22: 260-264.
129. Swartz M.A., Karth J., Schneider D.T., Rodriguez R., Beckwith J.B., Perlman E.J., et al. *Renal medullary carcinoma: clinical, pathologic, immunohistochemical, and genetic analysis with pathogenetic implications.* Urology 2002; 60: 1083-1089.
130. Gatalica Z., Lille berg S.L., Monzon F.A., Koul M.S., Bridge J.A., Knezetic J., et al. *Renal medullary carcinomas: histopathologic phenotype associated with diverse genotypes.* Hum. Pathol. 2011; 42: 1979-1988.

- 
131. Albadine R., Wang W., Brownlee N.A., Toubaji A., Billis A., Argani P., et al. *Topoisomerase II alpha status in renal medullary carcinoma: immune-expression and gene copy alterations of a potential target of therapy*. J. Urol. 2009; 182: 735-740.
132. Schaeffer E.M., Guzzo T.J., Furge K.A., Netto G., Westphal M., Dykema K., et al. *Renal medullary carcinoma: molecular, pathological and clinical evidence for treatment with topoisomerase-inhibiting therapy*. BJU Int. 2010; 106: 62-65.
133. Simpson L., He X., Pins M., Huang X., Campbell S.C., Yang X.J., et al. *Renal medullary carcinoma and ABL gene amplification*. J. Urol. 2005; 173: 1883-1888.
134. Stahlschmidt J., Cullinane C., Roberts P., Picton S.V. *Renal medullary carcinoma: prolonged remission with chemotherapy, immunohistochemical characterisation and evidence of bcr/abl rearrangement*. Med. Pediatr. Oncol. 1999; 33: 551-557.
135. MacLennan G.T., Farrow G.M., Bostwick D.G. *Low grade collecting carcinoma of the kidney: report of 13 cases of low grade mucinous tubulocystic renal cell carcinoma of possible collecting origin*. Urology. 1997; 50: 679-684.
136. Yang X.J., Zhou M., Hes O., Shen S., Li R., Lopez J., et al. *Tubulocystic carcinoma of the kidney: clinicopathologic and molecular characterization*. Am J. Surg. Pathol. 2008; 32: 177-187.
137. Amin M.B., MacLennan G.T., Gupta R., Grignon D., Paraf F., Vieillefond A., et al. *Tubulocystic carcinoma of the kidney: clinicopathologic analysis of*

- 
- 31 cases of a distinctive rare subtype of renal cell carcinoma. *Am. J. Surg. Pathol.* 2009; 33: 384-392.
138. Argani P., Olgac S., Tickoo S.K., Goldfischer M., Moch H., Chan D.Y., et al. *Xp11 translocation renal cell carcinoma in adults: expanded clinical, pathologic*
139. Argani P., Laé M., Hutchinson B., Reuter V.E., Collins M.H., Perentes J., et al. *Renal carcinomas with the t(6;11)(p21;q12). Clinicopathologic features and demonstration of the specific Alpha-TFEB gene fusion by immunohistochemistry, RT-PCR, and DNA-PCR.* *Am. J. Surg. Pathol.* 2005; 29:230–240.
140. Argani P., Yonescu R., Morsberger L., Morris K., Netto G.J., Smith N., et al. *Molecular confirmation of the t(6;11)(p21;q12) renal cell carcinomas in archival paraffin-embedded material using a break-apart TFEB FISH assay expands its clinicopathologic spectrum.* *Am. J. Surg. Pathol.* 2012; 36: 1516-1526.
141. Tickoo S.K., dePeralta-Venturina M.N., Harik L.R., Worcester H.D., Salama M.E., Young A.N., et al. *Spectrum of epithelial neoplasms in end-stage renal disease: an experience from 66 tumor-bearing kidneys with emphasis on histologic patterns distinct from those in sporadic adult renal neoplasia.* *Am. J. Surg. Pathol.* 2006; 30: 141-153.
142. Kuroda N., Yamashita M., Kakehi Y., Hes O., Michal M., Lee G.H., et al. *Acquired cystic disease-associated renal cell carcinoma: an immunohistochemical and fluorescence in situ hybridization study.* *Med. Mol. Morphol* 2011; 44: 228-232.

- 
143. Amin M.B., Tamboli P., Javidan J., Stricker H., de-  
Peralta Venturina M.N., Deshpande A., et al. *Prognostic impact of histologic subtyping of adult renal epithelial neoplasms: an experience of 405 cases.* Am. J. Surg. Pathol. 2002; 26: 281-291.
144. Cheville J.C., Lohse C.M., Zincke H., Weaver A.L., Leibovich B.C., Frank I., et al. *Sarcomatoid renal cell carcinoma: an examination of underlying histologic subtype and an analysis of associations with patient outcome.* Am. J. Surg. Pathol. 2004; 28: 435-441.
145. Lopez-Beltran A., Carrasco J.C., Cheng L., Scarpelli M., Kirkali Z. and Montironi R. *2009 update on the classification of renal epithelial tumors in adults.* Int. J. Urol. 2009;16:432-443.
146. Fuhrman S.A., Lasky L.C., Limas C. *Prognostic significance of morphologic parameters in renal cell carcinoma.* Am. J. Surg. Pathol. 1982; 6: 655-663.
147. Medeiros L.J., Jones E.C., Aizawa S., Aldape H.C., Cheville J.C., Goldstein N.S., et al. *Grading of renal cell carcinoma: Workgroup No. 2. Union Internationale Contre le Cancer (UICC) and the American Joint Committee on Cancer (AJCC).* Cancer. 1997; 80: 990-991.
148. Algaba F. *Prognostic factors of epithelial tumours Of the kidney.* Pathologica 1999; 91(1): 51-53.
149. Delahunt B., Cheville J.C., Martignoni G., Humphrey A., Magi-Galluzzi C., McKenney J., et al and the Members of the ISUP Renal Tumor Panel. *The International Society of Urological Pathology (ISUP) Grading System for Renal Cell Carcinoma and Other Prognostic Parameters.* Am. J. Surg. Pathol. 2013; 37: 1490-1504.

- 
150. Delahunt B. *Advances and controversies in grading and staging of renal cell carcinoma*. Mod. Pathol. 2009; 22: S24-S36.
151. Delahunt B., Sika-Paotonu D., Bethwaite P.B., McCredie M.R., Martignoni G., Eble J.N., et al. *Fuhrman grading is not appropriate for chromophobe renal cell carcinoma*. Am. J. Surg. Pathol. 2007; 31:957-960.
152. Delahunt B., McKenney J.K., Lohse C.M., Leibovich B.C., Thompson R.H., Boorjian S.A., et al. *A novel grading system for clear cell renal cell carcinoma incorporating tumor necrosis*. Am. J. Surg. Pathol 2013; 37: 311-322.
153. Delahunt B., Egevad L., Montironi R., Srigley J.R. *International Society of Urological Pathology (ISUP) Consensus Conference on Renal Neoplasia. Rationale and Organization*. Am. J. Surg. Pathol. 2013; 37: 1463-1468.
154. Kroeger N., Rampersand E.N., Patard J.J., Jesche J., Groselj-Strele A., Kappel-Kettner K., et al. *Prognostic value of microvascular invasion predicting cancer specific survival and risk of metastatic disease in renal cell carcinoma: a multicenter investigation*. J. Urol. 2012; 187: 834-839.
155. Guinan P., Sobin L.H., Algaba F., Badellino F., Kameyama S., MacLennan G., et al. *TNM staging of renal carcinoma: workgroup No. 3*. Cancer 1997; 80(5): 992-993.
156. Greene F.L., Page D., Morrow M., Balch C., Haller D., Fritz A., et al. *Eds. AJCC Cancer Staging Manual 6th ed*. New York: Springer-Verlag; 2002.
157. Edge S.B., Byrd D.R., Compton C.C., Fritz A.G., Greene F.L., Trotti A., et al. *AJCC Cancer Staging Handbook from the AJCC Cancer Staging Manual. Genitourinary Sites, Seventh Edition*. New York. Ed. Springer. 2010: 73-86.



- 
158. Thompson R.H., Blute M.L., Krambeck A.E., Lohse C.M., Magera J.S., Leibovich B.C., et al. *Patients with pT1 renal cell carcinoma who die from disease after nephrectomy may have unrecognized renal sinus fat invasion.* Am. J. Surg. Pathol. 2007;31:1089–1093.
159. Bonsib S.M. *T2 clear cell renal cell carcinoma is a rare entity: a study of 120 clear cell renal cell carcinomas.* J. Urol. 2005;174:1199–1202; discussion 1202.
160. Trpkov K., Grignon D.J., Bonsib S.M., Amin M.B., Billis A., Lopez-Beltrán A., et al and the members of the ISUP Renal Tumor Panel. *Handling and Staging of renal cell carcinoma: The International Society of Urological Pathology (ISUP) Consensus Conference recommendations.* Am. J. Surg. Pathol. 2013; 37: 1505-1517.
161. Lane B.R., Babineau D., Kattan M.W., Novick A.C., Gill I.S., Zhou M., et al. *A preoperative prognostic nomogram for solid enhancing renal tumors 7 cm or less amenable to partial nephrectomy.* J. Urol. 2007; 178(2): 429-434.
162. Raj G.V., Thompson R.H., Leibovich B.C., Blute M.L., Russo P., Kattan M.W., et al. *Preoperative nomogram predicting 12-year probability of metastatic renal cancer.* J. Urol. 2008; 179: 2146-2151.
163. Klatte T., Patard J.J., Goel R.H., Kleid M.D., Guille F., Lobel B., et al. *Prognostic impact of tumor size on pT2 RCC: An international multicenter experience.* J. Urol. 2007; 178: 35-40.
164. Cindolo L., Pattard J.J., Chiodini P., Schips L., Ficarra V., Tostain J., et al. *Comparison of predictive accuracy of four prognostic models for nonmetastatic renal cell carcinoma after nephrectomy: a multicenter European study.* Cancer 2005; 104: 1362-1371.

- 
165. Kattan M.W., Reuter V., Motzer R.J., Katz J., Russo P. *A postoperative prognostic nomogram for renal cell carcinoma*. J. Urol. 2001; 166(1): 63-67.
166. Sorbellini M., Kattan M.W., Snyder M.E., Reuter V., Motzer R., Goetzel M., et al. *A postoperative prognostic nomogram predicting recurrence for patients with conventional clear cell renal cell carcinoma*. J. Urol. 2005; 173: 48-51.
167. Zisman A., Pantuck A.J., Dorey F., Said J.W., Shvarts O., Quintana D., et al. *Improved prognostication of renal cell carcinoma using an integrated staging system*. J. Clin. Oncol. 2001; 19: 1649-1657.
168. Zisman A., Pantuck A.J., Wieder J., Chao D.H., Dorey F., Said J.W., et al. *Risk group assesment and clinical outcome algorithm to predict the natural history of patients with surgically resected renal cell carcinoma*. J. Clin. Oncol. 2002; 20: 4559-4566.
169. Patard J.J., Kim H.L., Lam J.S., Dorey F.J., Pantuck A.J., Zisman A., et al. *Use Of University of California Los Angeles integrated staging system to predict survival in renal cell carcinoma: an international multicentes study*. J. Clin. Oncol. 2004; 22: 3316-3322.
170. Frank I., Blute M.L., Cheville J.C., Lohse C.M., Weaver A.L., Zincke H., et al. *An outcome prediction model for patients with clear cell renal cell carcinoma treated with radical nephrectomy based on tumor stage, size, grade and necrosis: the SSIGN score*. J. Urol. 2002; 168: 2395-2400.
171. Leibovich B.C., Cheville J., Lohse C., Zincke H., Frank I., Kwon E.D., et al. *A scoring algorithm to predict survival for patients with metastatic clear cell renal cell carcinoma: a stratification tool for prospective clinical trials*. J. Urol. 2005; 174: 1759-1763.

- 
172. Motzer R.J., Mazumdar M., Bacik J., Berg W., Amsterdam A., Ferrara J., et al. *Survival and prognostic stratification of 670 patients with advanced renal cell carcinoma*. J. Clin. Oncol. 1999; 17: 2530-2540.
173. Mekhail T.M., Abou-Jawde R.M., Boucherhi G., Malhi S., Wood L., Elson P., et al. *Validation and extension of the memorial sloan-kettering prognostic factors model for survival in patients with previously untreated metastatic renal cell carcinoma*. J. Clin. Oncol. 2005; 23: 832-841. .
174. Karakiewicz P.I., Briganti A., Chun F.K., Trinh Q.D., Perrotte P., Ficarra V., et al. *Multi-institutional validation of a new renal cancer-specific survival nomogram*. J. Clin. Oncol. 2007; 25:1316-1322.
175. Kim H.I., Seligson D., Liu X., Janzen N., Bui M.H., Yu H., et al. *Using tumor markers to predict the survival of patients with metastatic renal cell carcinoma*. J. Urol. 2005; 173: 1496-1501.
176. Russo G.I, Di Rosa A., Favilla V., Fragalà E., Castelli T., Privitera S., et al. *Accuracy capabilities comparisons between Karakiewicz, Kattan and Cindolo nomograms in predicting outcomes for renal cancer carcinoma: A systematic review and meta-analysis*. Can. Urol. Assoc. J. 2015; 9: 359-66.
177. Coleman J.A. *Familial and hereditary renal cancer syndromes*. Urol. Clin. North Am. 2008; 35(4):563-72.
178. Haas N.B. and Nathanson K.L. *Hereditary Kidney Cancer Syndromes*. Advances in Chronic Kidney Disease 2014; 2: 81-90.
179. Maher E., Kaelin W.G. *von Hippel-Lindau disease*. Medicine. 1997; 76: 381-391.
180. Birt A.R., Hogg G.R., Dubé W.J. *Hereditary multiple fibrofolliculomas with trichodiscomas and acrochordons*. Arch. Dermatol. 1977; 113: 1674-1677.

- 
181. Zbar B., Alvord W.G. Glenn G., Turner M., Pavlovich C.P., Schmidt L., et al. *Risk of renal and colonic neoplasms and spontaneous pneumothorax in the Birt-Hogg-Dubé syndrome*. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2002; 11: 393-400.
182. Pavlovich C.P., Walther M.M., Eyler R.A., Hewitt S.M., Zbar B., Linehan W.M., et al. *Renal tumors in the Birt-Hogg-Dubé syndrome*. *Am. J. Surg. Pathol.* 2002; 26: 1542-1552.
183. Schmidt L.S., Warren M.B., Nickerson M.L., Weirich G., Matrosova V., Toro J.R., et al. *Birt-Hogg-Dubé syndrome, a genodermatosis associated with spontaneous pneumothorax and kidney neoplasia, maps to chromosome 17p11.2*. *Am. J. Hum. Genet.* 2001; 69: 876-882.
184. Nickerson M., Warren M., Toro J., Matrosova V., Glenn G., Turner M.L., et al. *Mutations in a novel gene lead to kidney tumors, lung wall defects, and benign tumors of the hair follicle in patients with the Birt-Hogg-Dubé syndrome*. *Cancer Cell.* 2002; 2: 157-164.
185. Farley M.N., Schmidt L.S., Mester J.L., Peña-Llopis S., Pavia-Jimenez A., Christie A., et al. *A novel germline mutation in BAP1 predisposes to familial clear-cell renal cell carcinoma*. *Mol. Cancer Res.* 2013; 11(9):1061-1071.
186. Duan D.R., Pause A., Burgess W., Aso T., Chen D.Y., Garrett K.P., et al. *Inhibition of transcriptional elongation by the VHL tumor suppressor protein*. *Science.* 1995; 269: 1402-1406.
187. Maher E.R., Yates J.R.W., Harries R., Benjamin C., Harris R., Moore A.T., et al. *Clinical features and natural history of von Hippel-Lindau disease*. *Q. J. Med.* 1990; 77: 1151-1163.

- 
188. Melmon K., Rosen S. *Lindau's disease*. Am. J. Med. 1964; 36: 595-617.
189. Seizinger B.R., Rouleau G.A., Ozelius L.J., Lane A.H., Farmer G.E., Lamiell J.M., et al. *von Hippel-Lindau disease maps to the region of chromosome 3 associated with renal cell carcinoma*. Nature. 1988; 332: 268-269.
190. Latif F., Tory K., Gnarr J., Yao M., Duh F.M., Orcutt M.L., et al. *Identification of the von Hippel-Lindau disease tumor suppressor gene*. Science. 1993; 260: 1317-1320.
191. Friedrich Ch. A. *Von Hippel-Lindau Syndrome*. Cancer. (Supplement) 1999; 86(11): 2478-2482.
192. Friedrich C.A. *Genotype-phenotype correlation in von Hippel-Lindau syndrome*. Hum. Mol. Genet. 2001; 10: 763-767.
193. Chen F., Kishida T., Yao M., Hustad T., Glavac D., Dean M., et al. *Germline mutations in the von Hippel-Lindau disease tumor suppressor gene: correlations with phenotype*. Hum. Mutat. 1995; 5: 66-75.
194. Melendez B., Rodriguez-Perales S., Martinez-Delgado B., Otero I., Robledo M., Martinez-Ramirez A., et al. *Molecular study of a new family with hereditary renal cell carcinoma and a translocation t(3;8)(p13;q24.1)*. Hum. Genet. 2003; 112: 178-185.
195. Kovacs G., Brusa P., De Riese W. *Tissue-specific expression of a constitutional 3;6 translocation: Development of multiple bilateral renal-cell carcinomas*. Int. J. Cancer. 1989; 43: 422-427.
196. van den Berg A., van der Veen A.Y., Hulsbeek M.M.F., Kovacs G., Gemmill R.M., Drabkin H.A., et al. *Defining the position of the breakpoint of*

- the constitutional t(3;6) occurring in a family with renal cell carcinoma. Genes Chromosom Cancer. 1995; 12: 224-228.*
197. Koolen M.I., van der Meyden A.P.M., Bodmer D., Eleveld M., van der Looij E., Brunner H., et al. *A familial case of renal cell carcinoma and a t(2;3) chromosome translocation. Kidney Int. 1998; 53: 273-275.*
198. Bodmer D., Eleveld M.J., Ligtenberg M.J.L., Weterman M.A., Janssen B.A., Smeets D.F., et al. *An Alternative Route for Multistep Tumorigenesis in a Novel Case of Hereditary Renal Cell Cancer and a t(2;3)(q35;q21) Chromosome translocation. Am. J. Hum. Genet. 1998; 62: 1475-1483.*
199. Kanayama H., Lui W.O., Takahashi M., Naroda T., Kedra D., Wong F.K., et al. *Association of a novel constitutional translocation t(1q;3q) with familial renal cell carcinoma. J Med Genet. 2001; 38: 165-170.*
200. Zbar B., Glenn G., Lubinsky I., Choyke P., Walther M.M., Magnusson G., et al. *Hereditary papillary renal cell carcinoma: Clinical studies in 10 families. J Urol. 1995; 153: 907-912.*
201. Bernues M., Casadevall C., Miro R., Caballín M.R., Villavicencio H., Salvador J., et al. *Cytogenetic characterization of a familial papillary renal cell carcinoma. Cancer Genet. Cytogenet. 1995; 84: 123-127.*
202. Tomlinson I.P., Alam N.A., Rowan A.J., Barclay E., Jaeger E.E., Kelsell D., et al. *Germline mutations in FH predispose to dominantly inherited uterine fibroids, skin leiomyomata and papillary renal cell cancer. Nat. Genet. 2002; 30: 406-410.*
203. Van Sleightenhorst M., de Hoogt R., Hermans C., Nellist M., Janssen B., Verhoef S., et al. *Consortium TT: Identification of the tuberous sclerosis gene TSC1 on chromosome 9q34. Science. 1997; 277: 805-808.*

- 
204. *European Consortium on Tuberous Sclerosis: Identification and characterization of the tuberous sclerosis gene on chromosome 16.* Cell. 1993; 75: 1305-1315.
205. Roach E.S., Gomez M.R., Northrup H. *Tuberous sclerosis complex consensus conference: Revised clinical diagnostic criteria.* J. Child. Neurol. 1998; 13: 624-628.
206. Parry L., Maynard J.H., Patel A., Clifford S.C., Morrissey C., Maher E.R., et al. *Analysis of TSC1 and TSC2 genes in sporadic renal cell carcinomas.* Br. J. Cancer. 2001; 85: 1226-130.
207. Duffy K., Al Saleem T., Karbowniczek M., Ewalt D., Prowse A.H., Henske E.P., et al. *Mutational analysis of the von Hippel-Lindau gene in clear cell renal carcinomas from tuberous sclerosis complex patients.* Mod. Pathol. 2002; 15: 205-210.
208. Pea M., Bonetti F., Martignoni G., Henske E.P., Manfrin E., Colato C., et al. *Apparent renal cell carcinomas in tuberous sclerosis are heterogeneous: the identification of malignant epithelioid angiomyolipoma.* Am. J. Surg. Pathol. 1998; 22: 180-187.
209. Hodges A.K., Li S., Maynard J., Parry L., Braverman R., Cheadle J.P., et al. *Pathological mutations in TSC1 and TSC2 disrupt the interaction between hamartin and tuberlin.* Mun. Mol. Genet. 2001; 10: 2899-2905.
210. Lynch E.D., Ostermeyer E.A., Lee M.K., Arena J.F., Ji H., Dann J., et al. *Inherited mutations in PTEN that are associated with breast cancer, Cowden disease, and juvenile polyposis.* Am. J. Hum. Genet. 1997;61:1254-1260.

- 
211. Letouze E., Martinelli C., Lorient C., Burnichon N., Abermil N., Ottolenghi C., et al. *SDH mutations establish a hypermethylation phenotype in paraganglioma*. Cancer Cell. 2013; 23:739-752.
212. Zhao J., Yart A., Frigerio S., Perren A., Schraml P., Weisstanner C., et al. *Sporadic human renal tumors display frequent allelic imbalances and novel mutations of the HRPT2 gene*. Oncogene 2007; 26: 3440-9.
213. Klatte T., Pantuck A.J. *Molecular biology of renal cortical tumors*. Urol. Clin. North Am. 2008; 35:573-80.
214. Hacker K.E., Rathmell W.K. *Emerging molecular classification in renal cell carcinoma: implications for drug development*. Target Oncol. 2010; 5: 75–84.
215. Sudarshan S., Linehan W.M., Neckers L. *HIF and fumarate hydratase in renal cancer*. Br. J Cancer. 2007; 96:403–7.
216. Gottlieb E., Tomlinson I.P. *Mitochondrial tumour suppressors: a genetic and biochemical update*. Nat. Rev. Cancer. 2005; 5:857–66.
217. Kim D.H., Sarbassov D.D., Ali S.M., King J.E., Latek R.R, Erdjument-Bromage H., et al. *mTOR interacts with raptor to form a nutrient-sensitive complex that signals to the cell growth machinery*. Cell 2002; 110:163–75.
218. Zhou H., Luo Y., Huang S. *Updates of mTOR inhibitors*. Anticancer Agents Med. Chem. 2010; 10:571–81.
219. Giubellino A., Linehan W.M., Bottaro D.P. *Targeting the Met signaling pathway in renal cancer*. Expert Rev. Anticancer Ther. 2009; 9: 785–93.



- 
220. Hakimi A.A., Chen Y.B., Wren J., Gonen M., Abdel-Wahab O., Heguy A., et al. *Clinical and pathologic impact of select chromatin-modulating tumor suppressors in clear cell renal cell carcinoma*. Eur. Urol. 2013; 63 :848–54.
221. Boveri T. *The Origin of Malignant Tumours*. Ed. Williams & Wilkins. Baltimore. 1929. pp 26-27.
222. Knudson A.G. *Mutation and cancer: statistical study of retinoblastoma*. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 1971; 68: 820-823.
223. Knudson A.G. *Antioncogenes and human cancer*. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 1993; 90: 10914-10921.
224. Knudson A.G. *Hereditary cancer: two hits revisited*. Cancer Res. Clin. Oncol. 1996; 122: 135-140.
225. Esteller M., Herman J.G. *Cancer as an epigenetic disease: DNA methylation and chromatin alterations in human tumours*. J. Pathol. 2002; 196: 1-7.
226. Esteller M., Fraga M.F., Guo M., Garcia-Foncillas J., Hedenfalk I., Godwin A.K., et al. *DNA methylation patterns in hereditary human cancers mimic sporadic tumorigenesis*. Hum. Mol. Genet. 2001; 10: 3001-3007.
227. Kok K., Naylor S.L., Buys C.H. *Deletions of the short arm of chromosome 3 in solid tumors and the search for suppressor genes*. Adv. Cancer Res. 1997; 71: 27-92.
228. Wei M.H., Latif F., Bader S., Kashuba V., Chen J.Y., Duh F.M., et al. *Construction of a 600-kilobase cosmid clone contig and generation of a transcriptional map surrounding the lung cancer tumor suppressor gene (TSG) locus on human chromosome 3p21.3: progress toward the isolation of a lung cancer TSG*. Cancer Res. 1996; 56: 1487-1492.

- 
229. Sekido Y., Ahmadian M., Wistuba I., Latif F., Bader S., Wei M.H., et al. *Cloning of a breast cancer homozygous deletion junction narrows the region of search for a 3p21.3 tumor suppressor gene.* *Oncogene.* 1998; 16: 3151-3157.
230. Latif F., Tory K., Modi W.S., Graziano S.L., Gamble G., Douglas J., et al. *Molecular characterization of a large homozygous deletion in the small cell lung cancer cell line U2020: a strategy for cloning the putative tumor suppressor gene.* *Genes Chromosomes Cancer.* 1992; 5:119-127.
231. Erlandsson R. *Molecular Genetics of Renal Cell Carcinoma.* *Cancer Genet. Cytogenet.* 1998; 104: 1-18.
232. Peña-Llopis S., Christie A., Xie X.J, and Brugarolas J. *Cooperation and antagonism among cancer genes: the renal cancer paradigm.* *Cancer Res.* 2013; 73: 4173–4179.
233. Creighton C.J., Morgan M., Gunaratne P.H., Wheeler D., Richard Gibbs R., et al. The Cancer Genome Atlas Research Network\*. *Comprehensive molecular characterization of clear cell renal cell carcinoma.* *Nature* 2013; 499: 43-49.
234. Wang N., Perkins K.L. *Involvement of band 3p14 in t(3;8) hereditary renal carcinoma.* *Cancer Genet. Cytogenet.* 1984; 11: 479-481.
235. Li F.P., Decker H.-J.H., Zbar B., Stanton V.P. Jr, Kovacs G., Seizinger B.R., et al. *Clinical and genetic studies of renal cell carcinomas in a family with a constitutional chromosome 3;8 translocation.* *Ann. Intern. Med.* 1993; 118: 106-111.

- 
236. van den Berg A., Buys C.H. *Involment of Multiple Loci on Chromosome 3 in Renal Cell Cancer Development*. Genes Chromosom Cancer. 1997; 19: 59-76.
237. Lerman M.I., Minna J.D. for *The International Lung Cancer Chromosome 3p21.3 Tumor Suppressor Gene Consortium: The 630-kb Lung Cancer Homozygous Deletion Region on Human Chromosome 3p21.3: Identification and Evaluation of the Resident Candidate Tumor Suppressor Genes*. Cancer Res. 2000; 60: 6116-6133.
238. Iniesta P., Massa M.J., González-Quevedo R., de Juan C., Morán A., Sánchez-Pernaute A., et al. *Loss of heterozygosity at 3p23 is correlated with poor survival in patients with colorectal carcinoma*. Cancer 2000; 89: 1220-1227.
239. Nawroz H., van der Riet P., Hruban R.H., Koch W., Ruppert J.M., Sidransky D., et al. *Allelotype of head and neck squamous cell carcinoma*. Cancer Res. 1994; 54: 1152-1154.
240. Chung G.T.Y., Huang D.P., Lo K.W., Chan M.K., Wong F.W. *Genetic lesion in the carcinogenesis of cervical cancer*. Anticancer Res. 1992; 12: 1485-1490.
241. Foster K., Osborne R.J., Huddart R.A., Affara N.A., Ferguson-Smith M.A., Maher E.R. *Molecular genetic analysis of the von Hippel-Lindau disease (VHL) tumour suppressor gene in gonadal tumours*. Eur. J. Cancer. 1995; 31: 2392-2395.
242. Kovacs G., Erlandsson R., Boldog F., Ingvarsson S., Müller-Brechlin R., Klein G., et al. *Consistent chromosome 3p deletion and loss of*

- 
- heterozygosity in renal cell carcinoma*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1988; 85: 1571-1575.
243. Chudek J., Wilhem M., Bugert P., Herbers J., Kovacs G. *Detailed microsatellite analysis of chromosome 3p region in nonpapillary renal cell carcinomas*. Int. J. Cancer. 1997; 73: 225-229.
244. Anglard P., Tory K., Brauch H., Weiss G.H., Latif F., Merino M.J., et al. *Molecular analysis of genetic changes in the origin and development of renal cell carcinoma*. Cancer Res. 1991; 51: 1071-1077.
245. Yamakawa K., Morita R., Takahashi E., Hori T., Ishikawa J., Nakamura Y., et al. *A detailed deletion mapping of the short arm of chromosome 3 in sporadic renal cell carcinoma*. Cancer Res. 1991; 51: 4707-4711.
246. Crossey P.A., Maher E.R., Jones M.H., Richards F.M., Latif F., Phipps M.E., et al. *Genetic linkage between von Hippel-Lindau disease and three microsatellite polymorphisms refines the localization of the VHL locus*. Hum. Mol. Genet. 1993; 2: 279-282.
247. Gnarr J.R., Tory K., Weng Y., Schmidt L., Wei M.H., Li H., et al. *Mutation of the VHL tumour suppressor gene in renal carcinoma*. Nat. Genet. 1994; 7: 85-90.
248. Foster K., Prowse A., van den Berg A., Fleming S., Hulsbeek M.M., Crossey P.A., et al. *Somatic mutations of the von Hippel-Lindau disease tumour suppressor gene in non-familial clear cell renal carcinoma*. Hum. Mol. Genet. 1994; 3: 2169-2173.
249. Herman J.H., Latif F., Weng Y., Lerman M.I., Zbar B., Liu S., et al. *Silencing of the VHL tumour suppressor gene by DNA methylation in renal carcinoma*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1994; 91: 9700-9704.

- 
250. Prowse A.H., Webster A.R., Richards F.M., Richard S., Olschwang S., Resche F., et al. *Somatic inactivation of the VHL gene in von Hippel-Lindau disease tumors*. Am. J. Hum. Genet. 1997; 60: 765-771.
251. Clifford S.C., Prowse A.H., Affara N.A., Buys C.H., Maher E.R. *Inactivation of the von Hippel-Lindau (VHL) tumour suppressor gene and allelic losses at chromosome arm 3p in primary renal cell carcinoma: evidence for a VHL-independent pathway in clear cell renal tumorigenesis*. Genes Chromosomes Cancer. 1998; 22: 200-209.
252. Nickerson M.L., Jaeger E., Shi Y., Durocher J.A., Mahurkar S., Zaridze D., et al. *Improved identification of von Hippel-Lindau gene alterations in clear cell renal tumors*. Clin. Cancer Res. 2008; 14: 4726–4734.
253. Martinez A., Fullwood P., Kondo K., Kishida T., Yao M., Maher E.R., et al. *Role of chromosome 3p12-p21 tumour suppressor genes in clear cell renal carcinoma: analysis of VHL dependent and VHL independent pathways of tumorigenesis*. Mol. Pathol. 2000; 53: 137-144.
254. Lam J.S., Klatte T., Kim H.L., Patard J.J., Breda A., Zisman A., et al. *Prognostic factors and selection for clinical studies of patients with kidney cancer*. Crit. Rev. Oncol. Hematol. 2008; 65: 235-62.
255. Ogawa O., Takehi Y., Ogawa K., Koshida M., Sugiyama T., Yoshida O. *Allelic loss at chromosome 3p characterizes clear cell phenotype of renal cell carcinoma*. Cancer Res 1991; 51: 949-953.
256. Zbar B., Brauch H., Talmadge C., Linehan M. *Loss of alleles of loci on the short arm of chromosome 3 in renal-cell carcinoma*. Nature 1987; 327: 721-724.

- 
257. van der Berg A., Hulsbeek M.M.F., de Jong D. et al. *Major role for a 3p21 region and lack of involvement of the t(3;8) breakpoint region in the development of renal cell carcinoma suggested by loss of heterozygosity analysis.* Genes Chromosomes Cancer 1996; 15: 64-72.
258. Jones M.H., Yamakawa K., Nakamura Y. *Isolation and characterization of 19 dinucleotide repeat polymorphisms on chromosome 3p.* Human Molecular Genetics 1992; 1:131-133.
259. Pathak S., Strong L.C., Ferrell R.E., Trindade A. *Familial renal cell carcinoma with a 3;11 chromosome translocation limited to tumor cells.* Science 1982; 217: 939-41.
260. Shimizu M, Yokota J, Mori N, Shuin T., Shinoda M., Terada M. et al. *Introduction of normal chromosome 3p modulates the tumorigenicity of a human renal cell carcinoma cell line.* Oncogene 1990; 5: 185-194.
261. Julicher K., Marquitan G., Werner N., Bardenheuer W., Vieten L, Bröcker F. et al: *Novel tumor suppressor locus in human chromosome region 3p14.2.* J. Natl. Cancer Inst. 1999; 91: 1563-1568.
262. Shuin T., Kondo K., Torigoe S., Kishida T., Kubota Y., Hosaka M., et al. *Frequent somatic mutations and loss of heterozygosity of the von Hippel-Lindau tumor suppressor gene in primary human renal cell carcinomas.* Cancer Res. 1994; 54:2852-5.
263. Wilhelm M., Bugert P., Kenck C., Staehler G., Kovacs G. *Terminal deletion of chromosome 3p sequences in nonpapillary renal cell carcinomas: a breakpoint cluster between loci D3S1285 and D3S1603.* Cancer Res. 1995; 55: 5383-5385.

- 
264. Foster K., Crossey P.A., Cairns P., Hetherington J.W., Richards F.M., Jones M.H., et al. *Molecular genetic investigation of sporadic renal cell carcinoma: analysis of allele loss on chromosomes 3p, 5q, 11p, 17 and 22*. Br. J. Cancer. 1994; 69:230-4.
265. Thrash-Bingham C.A., Greenberg R.E., Howard S., Bruzel A., Bremer M., Goll A., et al. *Comprehensive allelotyping of human renal cell carcinomas using microsatellite DNA probes*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1995; 92: 2854-2858.
266. Moch H., Presti J.C. Jr, Sauter G., Buchholz N., Jordan P., Mihatsch M. J., et al. *Genetic aberrations detected by comparative genomic hybridization are associated with clinical outcome in renal cell carcinoma*. Cancer Res. 1996; 56: 27-30.
267. Marsaud A., Dadone B., Ambrosetti D., Baudoin C., Chamorey E., Rouleau E., et al. *Dismantling papillary renal cell carcinoma classification: The heterogeneity of genetic profiles suggests several independent diseases*. Genes Chromosomes Cancer 2015; 54: 369-382.
268. Willers C.P., Siebert R., Bardenheuer W., Lux A., Michaelis S., Seeber S., et al. *Genetic instability of 3p12-p21-specific microsatellite sequences in renal cell carcinoma*. Br J Urol. 1996; 77: 524-9.
269. Fishel R., Lescoe M.K., Rao M.R., Copeland N.G., Jenkins N.A., Garber J., et al. *The human mutator gene homolog MSH2 and its association with hereditary nonpolyposis colon cancer*. Cell. 1993; 75: 1027-1038.
270. Modrich P. *Mechanisms and biological effects of mismatch repair*. Annu Rev Genet. 1991; 25: 229-253.

- 
271. Schullerus D., von Knobloch R., Chudek J., Herbers J., Kovacs G. *Microsatellite analysis reveals deletion of a large region at chromosome 8p in conventional renal cell carcinoma*. Int J Cancer. 1999; 80: 22-24.
272. Linehan M., Miller E., Anglard P., Merino M., Zbar B. *Improved detection of allele loss in renal cell carcinomas after removal of leukocytes by immunologic selection*. J Natl Cancer Inst. 1989; 81: 287-290.
273. Presti J.C. Jr., Reuter V.E., Cordon-Cardo C., Mazumdar M., Fair W.R., Jhanwar S.C. *Allelic deletions in renal tumors: histopathological correlations*. Cancer Res. 1993; 53: 5780-5783.
274. Bugert P., Kovacs G. *Molecular differential diagnosis of renal cell carcinomas by microsatellite analysis*. Am J Pathol. 1996; 149: 2081-2088.
275. Alimov A., Kost-Alimova M., Liu J., Li Ch., Bergerheim U., Imreh S., et al. *Combined LOH/CGH analysis proves the existence of interstitial 3p deletions in renal cell carcinoma*. Oncogene 2000; 19: 1392-1399.
276. Varela I., Tarpey P., Raine K., Huang D., Ong C.K., Stephens P., et al. *Exome sequencing identifies frequent mutation of the SWI/SNF complex gene PBRM1 in renal carcinoma*. Nature 2011; 469: 539–542.
277. Guo G., Gui Y., Gao S., Tang A., Hu X., Huang Y., et al. *Frequent mutations of genes encoding ubiquitin-mediated proteolysis pathway components in clear cell renal cell carcinoma*. Nat Genet 2012; 44:17–19.
278. Sato Y., Yoshizato T., Shiraishi Y., Maekawa S., Okuno Y., Kamura T., et al. *Integrated molecular analysis of clear-cell renal cell carcinoma*. Nat Genet 2013; 45: 860–867.



- 
279. Gerlinger M., Rowan A.J., Horswell S., Larkin J., Endesfelder D., Gronroos E., et al. *Intratumor Heterogeneity and Branched Evolution Revealed by Multiregion Sequencing*. New England Journal of Medicine 2012; 366: 883–892.
280. Sugimura J., Tamura G., Suzuki Y. and Fujioka T. Allelic loss on chromosomes 3p, 5q and 17p in renal cell carcinomas. Pathology International 1997; 47: 79-83.
281. Kondo K., Yao M., Yoshida M., Kishida T., Shuin T., Miura T., et al. Comprehensive mutational analysis of the VHL gene in sporadic renal cell carcinoma: relationship to clinicopathological parameters. Genes Chromosomes Cancer. 2002; 34 :58-68.
282. Bocardo G. *Modelo Predictivo para la supervivencia y progresión en el carcinoma de células renales localizado y localmente avanzado intervenido mediante cirugía abierta*. Tesis doctoral 2007. Universidad Complutense de Madrid. Facultad de Medicina.
283. Patard J.J., Fergelot P., Karakiewicz P.I., Klatte T., Trinh Q-D., Rioux-Leclercq N., et al. *Low CAIX expression and absence of VHL gene mutation are associated with tumor aggressiveness and poor survival of clear renal cell carcinoma*. Int. J. Cancer 2008; 123: 395-400.